



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# Análisis espectrofotométrico del esmalte dental sometido a una sustancia blanqueadora experimental

Ingrid Giovana Suárez Fajardo

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología

Maestría en Odontología

Bogotá, Colombia

Junio de 2017

# Análisis espectrofotométrico del esmalte dental sometido a una sustancia blanqueadora experimental

Ingrid Giovana Suárez Fajardo

Tesis presentada como requisito para optar al título de:  
**Magister en Odontología**

Directora:

Carolina Torres Rodríguez. PhD en Investigación en Estomatología

Codirector:

Edgar Delgado Mejía, M.Sc en Química

Línea de Investigación: Materiales Dentales

Grupo de Investigación: GRAMO

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Odontología

Maestría en Odontología

Bogotá, Colombia

Junio de 2017

# Agradecimientos

Centro de Investigación y Extensión, Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia.

División de Investigación Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá DIB, por otorgar la ayuda económica para el desarrollo del proyecto registrado en Hermes 27575.

A mis directores, Profesora Carolina Torres y Profesor Edgar Delgado, por su valiosa guía y acompañamiento en este proceso.

Al programa de Maestría en Odontología. Universidad Nacional de Colombia.

Profesor Marco Fidel Suárez. Grupo de Electroquímica. Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.

Profesor Fabio González e ingeniero Andrés Castillo. Departamento Ingeniería de Sistemas. Universidad Nacional de Colombia.

Ingeniero David Daza. Estudiante de Maestría en Ingeniería Química. Laboratorio de Ingeniería Química. Universidad Nacional de Colombia.

Ingeniero César Bacca. Universidad Nacional de Colombia. Laboratorio de Ensayos Mecánicos.

## Resumen

En un estudio previo, el Grupo de Investigación GRAMO de la Universidad Nacional de Colombia, desarrolló una sustancia remineralizante blanqueadora experimental (SRBE), como un tratamiento alternativo a los peróxidos, debido sus efectos deletéreos. Sin embargo, el blanqueamiento obtenido en los dientes tratados no es homogéneo.

**Objetivo:** Evaluar in vitro el efecto de una sustancia remineralizante experimental, sobre el color del esmalte dental, mediante espectrofotómetro Vita Easy Shade y un programa analizador de imágenes.

**Metodología:** Previa preparación de la sustancia remineralizante experimental con varias modificaciones, se realizó un ensayo piloto en 30 dientes bovinos con el fin de establecer los parámetros para las pruebas definitivas. El ensayo definitivo se realizó en 60 molares humanos, repartidos en 6 grupos. Grupo C: Sin tratamiento, grupo SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental, grupo SRBEv: SRBE con viscosidad modificada, grupo SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada, grupo SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas y grupo PH: peróxido de hidrógeno Pola Office®. Se realizaron mediciones con el espectrofotómetro Vita Easy Shade antes y después del tratamiento, y se obtuvieron los valores  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Para el análisis de los datos, se empleó un modelo de medidas repetidas a dos vías de clasificación y un modelo de regresión lineal simple. Se tomaron fotografías con estereomicroscopio a los dientes antes y después del tratamiento y se analizaron con un analizador de imágenes desarrollado para esta investigación, que arrojó como resultado el porcentaje de homogeneidad (total de área blanqueada) y el porcentaje de bordes (cantidad de manchas). Los resultados se analizaron mediante un análisis de regresión Beta.

**Resultados:** En el análisis de medidas repetidas y la regresión lineal simple se encontró que para todos los grupos tratados con SRBE, hubo disminución en  $L^*$  (pero el único con cambio significativo fue el grupo SRBEt ( $p=0,01$ ) y un aumento en  $a^*$  y  $b$  siendo el más significativo el grupo SRBEt ( $p=0$ ). Según el análisis de regresión Beta, no hay diferencias significativas en el porcentaje de homogeneidad a un nivel de significancia del 5% ( $p=0.1527$ ), pero el SRBEt mostró una tendencia al aumento lo que quiere decir que fue el más homogéneo comparado con el peróxido de hidrógeno. Para el porcentaje de bordes existe diferencias entre los tratamientos ( $p= 0,0164$ ), siendo el que tiene mayor cantidad de manchas el SRBEv ( $p=0,001$ ).

**Conclusiones:** La SRBE afectó  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del color del esmalte dental, generando disminución en la luminosidad y una tendencia hacia los tonos menos verdes y menos azules, en los dientes tratados. El grupo SRBEt aumentó la homogeneidad del color del esmalte blanqueado. El Grupo SRBEv presentó la mayor cantidad de manchas y no logró un blanqueamiento homogéneo

**Palabras clave:** Esmalte dental, blanqueamiento dental, fosfatos de calcio, hidroxiapatitas, materiales biomiméticos, remineralización.

## Abstract

In a previous study, the GRAMO Research Group of the National University of Colombia, developed an experimental whitening remineralizing substance (EWRs), as an alternative treatment to peroxides, due to its deleterious effects. However, the whitening obtained in the treated teeth is not homogeneous.

**Objective:** To evaluate in vitro the effect of an experimental remineralizing substance, on the color of dental enamel, using a Vita Easy Shade spectrophotometer and an image analyzer program.

**Methodology:** Prior to preparation of the experimental remineralizing substance with various modifications, a pilot test was performed on 30 bovine teeth in order to establish the parameters for the definitive tests. The final assay was performed on 60 human molars, randomly assigned to 6 groups. C Group: Untreated, EWRs group: experimental whitening remineralizing substance, EWRsv group: EWRs with modified viscosity, EWRst group: EWRs with modified surface tension, EWRsvt group: EWRs with modified viscosity and surface tension and PH group: hydrogen peroxide Pola Office®. Measurements were made with the Vita Easy Shade spectrophotometer before and after treatment, and the  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  values were obtained. For the analysis of the data, a two-way repeated measures model was used and a simple linear regression model. Stereomicroscopic photographs were taken to the teeth before and after treatment and analyzed with an image analyzer developed for this research, which resulted in the percentage of homogeneity (total bleached area) and the percentage of edges (amount of spots). The results were analyzed using a Beta regression analysis.

**Results:** In the analysis of repeated measures and simple linear regression it was found that for all groups treated with EWRs there was decrease in  $L^*$  (but the only one with significant change was EWRst group ( $p = 0.01$ ) and an increase in  $a^*$  and  $b^*$  being the most significant EWRst group ( $p = 0$ ). According to the Beta regression analysis, there were no significant differences in the percentage of homogeneity at a significance level of 5% ( $p = 0.1527$ ), but the EWRst group showed a tendency to increase which means that it was the most homogeneous compared to hydrogen peroxide. For the percentage of edges, there were differences between treatments ( $p = 0.0164$ ), with the highest values being EWRsv group ( $p = 0.001$ ).

**Conclusions:** The EWRs affection  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  of the color of the dental enamel, producing a decrease in luminosity and a tendency toward less green and less blue tones in treated teeth. The EWRst group increased the color homogeneity of the bleached enamel. The EWRsv group presented the greatest number of spots and did not achieve a homogeneous whitening.

**Key words:** dental enamel, tooth bleaching, calcium phosphates, hydroxyapatites, biomimetic materials, remineralization

**Contenido****Pág.**

<b>Resumen .....</b>	<b>IV</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>V</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>VIII</b>
<b>Lista de tablas .....</b>	<b>X</b>
<b>Glosario de términos.....</b>	<b>XI</b>
<b>1. Marco teórico.....</b>	<b>3</b>
1.1 Esmalte.....	3
1.1.1 Estructura del esmalte.....	3
1.1.2 Propiedades ópticas de los dientes.....	5
1.2 Color.....	6
1.2.1. Definición.....	6
1.2.2. Escala de Munsel.....	7
1.2.3. Espacio de representación del color.....	8
1.2.4. Medición del color en odontología.....	10
1.2.5. Analizador de imágenes.....	14
1.3. Blanqueamiento dental.....	16
1.3.1. Agentes blanqueadores.....	16
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>27</b>
2.1. Objetivo general.....	27
2.2. Objetivos específicos.....	27
<b>3. Materiales y métodos.....</b>	<b>28</b>
3.1. Ensayo preliminar.....	29
3.1.1. Objetivo.....	29
3.1.2. Desarrollo.....	29
3.2. Ensayo definitivo.....	38
3.2.1. Desarrollo.....	38
<b>4. Resultados.....</b>	<b>42</b>
4.1. Primer objetivo específico y tercer objetivo específico.....	42
4.1.1. Resultados ensayo piloto.....	42
4.1.2. Resultados ensayo definitivo.....	44
4.2. Segundo objetivo específico.....	46
4.2.1. Resultados medición tensión superficial sustancias .....	46
4.2.2. Resultados medición viscosidad de sustancias experimentales.....	48
4.3. Cuarto objetivo específico.....	51
4.3.1. Resultados ensayo piloto.....	51
4.3.2. Resultado ensayo definitivo.....	54
4.4. Quinto objetivo específico.....	60
<b>5. Discusión.....</b>	<b>61</b>
<b>6. Conclusiones.....</b>	<b>71</b>

---

<b>7. Aplicaciones clínicas.....</b>	<b>72</b>
<b>8. Bibliografía.....</b>	<b>73</b>

## Listas de figuras

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Estructura jerárquica del esmalte dental.	4
Figura 2. Valor, matiz y croma.	6
Figura 3. Escala de Munsell.	7
Figura 4. Espacio de color de CIE Lab.	8
Figura 5. Espectrofotómetro Vita Easyshade.	13
Figura 6. Principales tareas en análisis de imágenes microscópicas.	15
Figura 7. Remoción abrasiva de manchas.	17
Figura 8. Estructura química del azul de covarina.	20
Figura 9. Estructura de la hidroxiapatita.	23
Figura 10. Limpieza de los dientes bovinos.	29
Figura 11. Tensiómetro de Anillo de de Du Nouy del Grupo de Electroquímica, Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.	31
Figura 12. Mediciones Viscosimetría en Reómetro de cono y plato, Bohlin C-VOR	32
Figura 13. Secuencia de tratamiento de la muestra de dientes bovinos.	34
Figura 14. Tratamiento con peróxido de hidrógeno, marca comercial Pola Office®	34
Figura 15. Estereomicroscopio Nikon modelo: SMZ800. Ubicado en el Laboratorio de ensayos mecánicos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Colombia.	35
Figura 16. Fotografías de dientes bovinos.	36
Figura 17. Programa analizador de imágenes procesando fotos de muestras	37
Figura 18. Secuencia de tratamiento de la muestra de dientes humanos para pruebas finales.	40
Figura 19. Diagrama de cajas y bigotes para porcentaje de homogeneidad y bordes. Ensayo piloto.	42
Figura 20. Diagrama de cajas y bigotes para porcentaje de homogeneidad y bordes, antes y después de los tratamientos. Ensayo definitivo.	44



Contenido	IX
Figura 21. Tensión superficial de metanol/agua	47
Figura 22. Tensión superficial de metanol/agua experimental vs literatura	47
Figura 23. Viscosimetría SRBE con viscosidad modificada	49
Figura 24. Viscosimetría SRBE con tensión superficial modificada.	50
Figura 25. Viscosimetría SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas	50
Figura 26. Viscosimetría del Peróxido de Hidrógeno Pola Office®	51
Figura 27. Diagrama de cajas y bigotes para $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ pre y postratamiento. Ensayo Piloto.	52
Figura 28. Diagrama de cajas y bigotes para $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ pre y postratamiento. Ensayo definitivo.	54
Figura 29. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para Delta E.	56
Figura 30. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para CIEDE2000.	57
Figura 31. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para el índice de blanqueamiento WID pre y postratamiento.	59

## Lista de tablas

Tabla 1. Variables del estudio	28
Tabla 2. Sustancias a evaluar	30
Tabla 3. Grupos experimentales del ensayo piloto	32
Tabla 4. Grupos experimentales de ensayo definitivo en dientes humanos.	40
Tabla 5. Resultados del modelo de regresión Beta para las variables porcentaje de homogeneidad y bordes, ensayo piloto.	43
Tabla 6. Resultados para el modelo de regresión Beta de las variables homogeneidad y bordes, ensayo definitivo	45
Tabla 7. Valores de tensión superficial reales de sustancias experimentales	48
Tabla 8. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo piloto de dientes bovinos, para las variables $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ .	53
Tabla 9. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos, para las variables $L^*$ , $a^*$ y $b^*$ ,	55
Tabla 10. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos, para la variable Delta E.	57
Tabla 11. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos, para la variable CIEDE 2000.	58
Tabla 12. Valores de CIEDE 2000 por grupos y umbrales de perceptibilidad (PT) y aceptabilidad (AT).	58
Tabla 13. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos para la variable WID pre y postratamiento.	59

## Glosario de términos

**Azeótropos:** Son mezclas de dos o más componentes, cuyas proporciones son tales que el vapor producido por evaporación parcial tiene la misma composición que el líquido. Cuando en una mezcla se encuentra en el punto del azeótropo (mezcla azeotrópica), dicha mezcla no puede ser destilable o separada en sus componentes. (1).

**Esfuerzo:** Propiedad física que expresa las fuerzas internas que las partículas vecinas de un material ejercen continuamente unas sobre otras (2).

**Lauril sulfato de sodio:** Agente tensoactivo hidrofílico, espumante (3).

**Polivinil alcohol:** Es un polímero sintético soluble en agua, se comporta como agente viscosante, emulsionante y tiene propiedades adhesivas. Es inodoro y no tóxico (4).

**Reología:** Abarca el estudio de la deformación y flujo de la materia (5).

**Reometría:** Es la ciencia que describe tanto los métodos de medida, como los instrumentos que permiten obtener datos reológicos de un material (6).

**Tensión superficial:** La tensión superficial de un líquido está asociada a la cantidad de energía necesaria para aumentar su superficie por unidad de área. Es causada por los efectos de las fuerzas intermoleculares. La tensión superficial depende de la naturaleza del líquido, del medio que le rodea y de la temperatura. Líquidos cuyas moléculas tengan fuerzas de atracción intermoleculares fuertes tendrán tensión superficial elevada (7).

**Viscosidad:** Es la resistencia que tienen las moléculas que conforman un líquido para separarse unas de otras, es decir, es la oposición de un fluido a deformarse y esta oposición es debida a las fuerzas de adherencia que tienen unas moléculas de un líquido o fluido con respecto a las otras moléculas del mismo líquido (8).

# Introducción

Los agentes blanqueadores que contienen peróxidos, generan daños reversibles e irreversibles al esmalte dental. Se ha descrito en la literatura, como estos agentes afectan el componente orgánico e inorgánico, que se ve reflejado en cambios en las propiedades mecánicas, físicas y químicas (9). Los peróxidos causan alteraciones a nivel superficial y subsuperficial del esmalte y se ha encontrado en estudios pérdida de la parte mineral rica en carbonatos, desorganización estructural y pérdida de sustancia interprismática (10) (11).

En la búsqueda de disminuir las alteraciones del esmalte producidas por los peróxidos, algunos fabricantes les han añadido fluoruros y fosfatos de calcio. Sin embargo a pesar de la adición de estas moléculas, no se ha logrado evitar los daños provocados por dichas sustancias (12)(13).

Algunos estudios han propuesto sustancias blanqueadoras alternativas como nano-hidroxiapatita, fosfato tricálcico, zinc-carboapatita y hexametáfosfato de sodio (14) (15) (16). Sin embargo algunas no han sido totalmente desarrolladas o no se han mejorado las falencias reportadas por los autores y no todas han sido comercializadas aún como sustancias blanqueadoras.

En el Grupo de Aplicación de Materiales a la Odontología (GRAMO) de la Universidad Nacional de Colombia, se desarrolló una sustancia remineralizante experimental con la cual se logró modificar el color dental en los tres parámetros establecidos por la escala CIELAB:  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ; dicha sustancia en experimentación aún presenta falencias como: tiempo necesario de exposición, la opacidad y falta de homogeneidad en el color de la superficie blanqueada (17) (18).

Por esta razón se plantea el presente trabajo de investigación, recoge la experiencia de los estudios anteriores mencionados, de otros autores y modifica propiedades de la sustancia blanqueadora experimental como la viscosidad y tensión superficial, para lograr homogeneidad en el color del esmalte tratado y generar un mayor desarrollo en la sustancia blanqueadora en experimentación.

La pregunta de investigación de la presente tesis es, **¿cómo influye la viscosidad y la tensión superficial de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental, en el color y su homogeneidad en el esmalte dental tratado?**

# 1. Marco teórico

## 1. 1. Esmalte

El esmalte es el tejido más duro del cuerpo humano, un 96% del mismo contiene material inorgánico y un 4% material orgánico y agua (19). La fase inorgánica corresponde a fosfato de calcio cristalino (hidroxiapatita). Iones como el estroncio, plomo y flúor pueden encontrarse también en los cristales (20). El alto contenido mineral le provee una gran dureza y fragilidad, sin embargo, la dentina da soporte al esmalte, para resistir mejor las cargas funcionales (20). El grosor del esmalte varía de ser muy delgado en la zona cervical, hasta medir 2.5 mm en zona de cúspides (21). El esmalte es translúcido y su color puede variar entre tonalidades amarillas, grises, blancas o azules (20).

### 1.1.1.Estructura del esmalte

#### 1.1.1.1. Fase inorgánica

El esmalte está formado por las varillas o prismas del esmalte, la vaina de los prismas y la sustancia interprismática (21). El esmalte consta de cristales de carboapatita similares a cintas, estrechamente empaquetados. Cada varilla mide entre 60 y 70 nm de ancho y 25 a 30 nm de espesor.

Las varillas son como cilindros, hechos de cristales que se orientan en la misma dirección del eje axial de éstas. La región interprismática rodea las varillas y sus cristales están orientados de manera diferente al eje de estas. Las varillas del esmalte se delimitan de la región interprismática, por una vaina, que contiene la fase orgánica, estas dos estructuras juntas se comparan visualmente con el ojo de una cerradura (19).

Los prismas se unen en agregados de 80 a 130 nm. Tanto los prismas, como la sustancia interprismática están formadas por las nanofibrillas de hidroxiapatita. La orientación de los cristales depende de la zona del esmalte, como el caso del esmalte más superficial que se caracteriza por tener un patrón radial (19).

Los modelos más recientes de la estructura del esmalte muestran que está organizado en unidades jerárquicas de varios niveles, se pueden identificar 7 niveles. El primer nivel son los cristales hexagonales de hidroxiapatita, los cristales unidos en nanofibras son el segundo nivel, luego se forman fibrillas alineadas de forma paralela entre ellas para el nivel 3 y se forman otras fibras más gruesas aún en el nivel 4. En el nivel 5 a una escala mayor, se observan las fibras y fibrillas en agregados paralelos entre sí, observándose con orientación de conglomerados la zona prismática y con disposición continua la zona interprismática. Aumentando la escala, los prismas se ven ensamblados en bandas prismáticas para el nivel 6. Ver figura 1. Dichas bandas presentan diferentes disposiciones a través del grosor de la capa de esmalte en el nivel 7, con el objetivo de dar a este tejido las propiedades mecánicas y físicas necesarias (19).

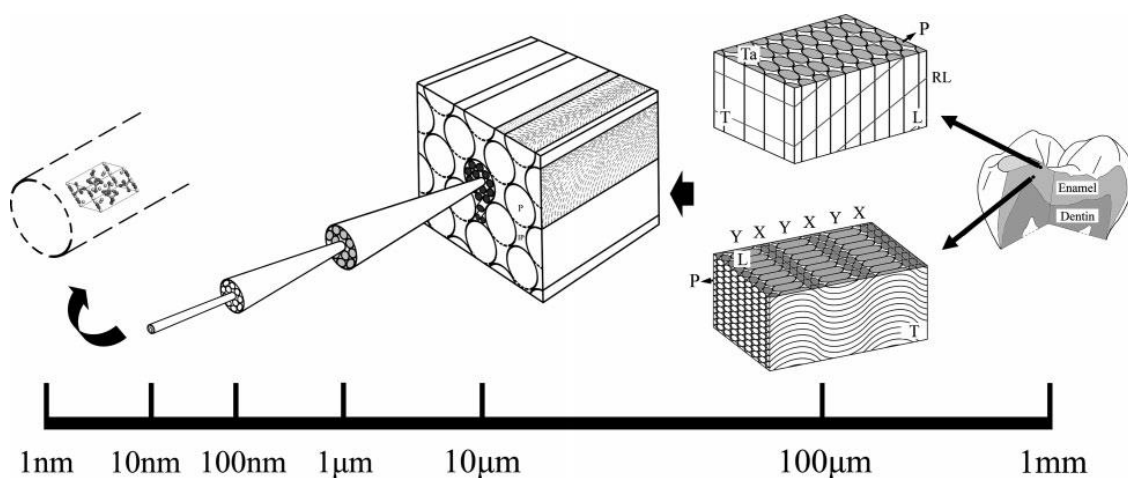


Figura 1. Estructura jerárquica del esmalte dental Tomado de (19).

#### 1.1.1.2. Fase orgánica

El 90% de las proteínas del esmalte son amelogeninas, que son un grupo heterogéneo de proteínas de bajo peso molecular, el 10% son proteínas no amelogeninas como las enamelinas y ameloblastinas. Las amelogeninas son proteínas hidrofóbicas ricas en prolina, histidina y glutamina, su peso molecular está entre 5 y 45 kDa. Las no amelogeninas son producidas en pequeñas cantidades y tienen una vida media corta. La tuftelina también pertenece a ese grupo, su función como proteína del esmalte aún no es clara, ya que se ha encontrado en otros tejidos.

Dos familias de proteinasas están involucradas en el procesamiento y degradación extracelular de las proteínas del esmalte. La enamelisina es una metaloproteinasa que está involucrada en el procesamiento de nuevas proteínas secretadas a la matriz. La calicreína es una enzima de la familia de las serina proteinasas, actúa como una enzima digestiva especialmente durante el periodo de maduración (20).

Unas de las últimas proteínas que se han descubierto son la amelotina y la apina: la amelotina se localiza en la lámina basal que forma la interfase entre los ameloblastos y el esmalte maduro, la localización de la apina aún no se ha determinado. Ambas proteínas median la adhesión del órgano del esmalte a la superficie del esmalte (20).

La ameloblastina en análisis de inmunohistoquímica se ha encontrado mayormente concentrada en sitios de crecimiento de los prismas del esmalte, en estos lugares también se ha detectado presencia de amelogenina pero a más baja concentración. Ambas proteínas se sintetizan juntas, están contenidas en los mismos gránulos secretores. Se cree que las amelogeninas forman grandes agregados llamados nanoesferas, que rodean los prismas a lo largo de su eje y que son visibles bajo el microscopio electrónico como un fondo granular entre los cristales. Se cree que la familia de las no amelogeninas promueven y guían la formación de las varillas del esmalte, mientras que las amelogeninas regulan su crecimiento en espesor y ancho. Estas últimas también previenen que los prismas se fusionen durante su formación (20).

### **1.1.2. Propiedades ópticas de los dientes**

Cuando la luz interactúa con un diente se producen varios fenómenos. Transmisión de la luz a través del diente, reflexión especular en la superficie, reflexión difusa de la luz en la superficie, absorción y dispersión de la luz dentro de los tejidos dentales (22). El color dental se produce como consecuencia de la reflexión de la luz en la superficie del diente, así como por la retrodispersión de la luz hacia el observador y las posibles emisiones de luz que se puedan producir dentro del diente.

En el esmalte los cristales de hidroxiapatita contribuyen a la dispersión de la luz y en la dentina los túbulos son los responsables de esto. El coeficiente de dispersión óptica del esmalte aumenta con la desmineralización (22).



El color del diente está principalmente determinado por el color de la dentina, el esmalte juega un papel menor dispersando las longitudes de onda en la gama del azul (22).

## 1.2. Color

### 1.2.1. Definición

El color es un fenómeno psicofísico, producto de la interacción de energía lumínica con un objeto y la experiencia subjetiva de un observador. La percepción del color puede ser influenciada por la fuente de luz, el objeto visualizado y el observador (22). La luz visible está formada por vibraciones electromagnéticas cuyas longitudes de onda van de unos 380 a 780 nm. Existen otras luces no visibles que se encuentran bajo los 400 nm o sobre los 700 nm, que son la ultravioleta y la infrarroja respectivamente (23). Munsell describió el color como un ente tridimensional que se describe en términos de matiz, valor, y croma (24). Ver figura 2.

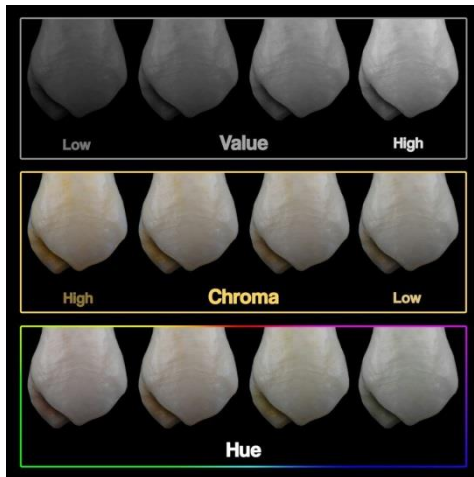


Figura 2. Valor, Matiz y Croma

#### 1.2.1.1. Matiz (Hue)

Es el rango dominante de longitudes de onda, en el espectro visible, que produce el color percibido. El matiz es una suma fisiológica y psicointerpretativa de longitudes de onda (24).

#### 1.2.1.2. Valor

El valor o luminosidad, es la cantidad de luz reflejada de un objeto. Munsell la describió como una escala de grises (24).

#### 1.2.1.3. Croma

El Croma se puede interpretar como el grado de saturación del color (24) y describe la fuerza o intensidad del mismo (22).

### 1.2.2. Escala de Munsell

Según este esquema el color se puede representar tridimensionalmente. En el eje vertical se encuentra la escala de valor del 1 al 10. El número 1 corresponde al negro puro y el número 10 el blanco puro. Los diferentes matices se encuentran ubicados en forma circular en el plano horizontal. Cada banda de matices está dividida en celdas, ubicando el matiz menos saturado cerca al eje central de los valores, la celda más externa representa la máxima saturación (23). (Figura 3).

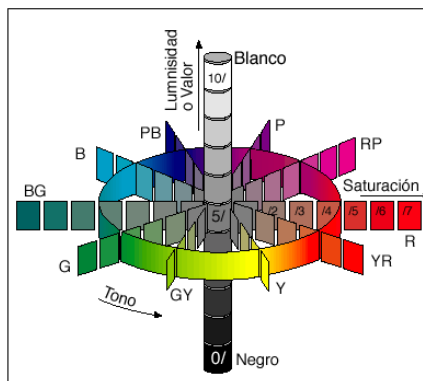


Figura 3. Escala de Munsell. Tomado de (25).

### 1.2.3. Espacio de representación del color

La “Commission Internationale del 'E'clairage” (CIE), una organización dedicada a la estandarización en áreas tales como el color y la apariencia, con el fin de representar cómo el sistema visual humano responde al color, definió en 1931 una fuente de luz estándar, un observador estándar y el cálculo de unos valores triestímulo. En 1976, la CIE define además un espacio de color, CIELAB, que apoya la teoría aceptada de la percepción del color basada en tres receptores de color distintos en el ojo (rojo, verde y azul). El espacio de color CIELAB representa un espacio de color uniforme, con distancias iguales correspondientes a las diferencias iguales en el color percibido. Los tres ejes de este espacio tridimensional del color son  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . (Figura 4). El valor  $L^*$  mide la claridad de un objeto y se cuantifica en una escala del 0 (negro) al 100 (blanco). El valor  $a^*$  es una medida para la cualidad de rojo ( $a^*$  positivo) o cualidad de verde ( $a^*$  negativo). El valor  $b^*$  mide la cualidad de amarillo ( $b^*$  positivo) o cualidad de azul ( $b^*$  negativo). Las ordenadas  $a^*$  y  $b^*$  se enfocan en cero para colores neutros (blanco, grises) y se incrementan en magnitud para colores más saturados (22) (26).

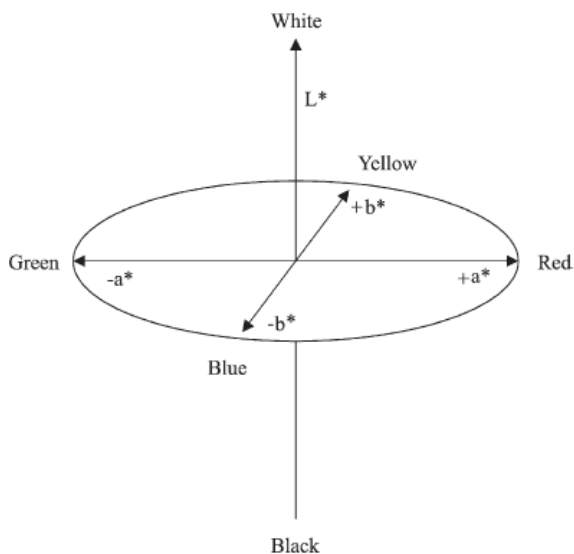


Figura 4. Espacio de color de CIE Lab. Tomado de (22).

Para evaluar la diferencia entre el color de dos objetos, el espacio de color CIELAB contempla el parámetro Delta E, cuanto mayor sea su valor, mayor será la diferencia de color y por ende más perceptible para el ojo humano (27) (28). La ecuación es:

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (28)$$

La CIE en el 2001 publicó una nueva fórmula para el cálculo de diferencias de color en el espacio CIELAB, CIEDE2000. Esta fórmula mejora los procedimientos de medición industrial del cambio de color, desarrollándolos de manera computacional. El objetivo de este sistema es corregir las diferencias entre el color medido de manera visual e instrumental, por medio de la incorporación de correcciones específicas para un espacio CIELAB no uniforme, ponderación de funciones, modificación del eje  $a^*$  que se relaciona con colores de bajo croma y parámetros para medir la influencia de la iluminación y las condiciones visuales en la evaluación de la diferencia de color(28).

$$\Delta E_{00} = \left[ \left( \frac{\Delta L'}{K_L S_L} \right)^2 + \left( \frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right)^2 + \left( \frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right)^2 + R_T \left( \frac{\Delta C'}{K_C S_C} \right) \left( \frac{\Delta H'}{K_H S_H} \right) \right]^{1/2} \quad (28)$$

La ecuación CIEDE2000 no solo incluye el croma, matiz y valor, sino también un término interactivo entre las diferencias en croma y matiz para mejorar la presentación de los colores azules y un factor de escala para CIE Lab para mejorar la presentación de los colores grises. (29).

Hay dos parámetros para evaluar clínicamente las diferencias en mediciones de color: umbral de perceptibilidad (PT) y umbral de aceptación (AT) los cuales sirven para evaluar cambio de color de materiales, estandarización, e investigación, etc. El PT hace referencia al valor mínimo de diferencia de color que puede ser detectado por el sistema visual humano (para un observador medio con percepción normal del color), mientras que el AT hace referencia al valor mínimo de diferencia de color que aunque es percibido, se considera clínicamente aceptable. Estos parámetros se han utilizado en diferentes áreas relacionadas con la compatibilidad del color, estabilidad del color e interacción del color (30). Existen distintos niveles de umbrales, los más utilizados son los

que corresponden a 50:50%, es decir aquellos valores que representan la posibilidad que un 50% de los observadores definan la diferencia de color entre dos muestras como aceptable o perceptible. El umbral de perceptibilidad CIEDE2000 50:50% es 0.34–1.28 y el umbral de aceptabilidad CIEDE2000 50:50% es 1.23–2.37(30).

#### **1.2.4. Medición del color en odontología**

##### **1.2.4.1. Técnica visual:**

Es el método más frecuente en odontología, sin embargo es poco confiable e inconsistente, ya que depende de la respuesta fisiológica y psicológica del observador a la estimulación. Las inconsistencias se deben al género, fatiga, edad, emociones, condiciones de luz, exposición visual previa, objeto a observar, posición de la luz, etc. (31) (28). La apreciación del color podría variar en un mismo individuo en diferentes momentos.

Pecho et al en el 2107, evaluaron la influencia del género en la precisión de la toma de color visual y encontraron una mayor precisión de la coincidencia del tono visual en el género femenino, comparado con el masculino, independientemente de la fórmula de diferencia de color utilizada (32).

##### **1.2.4.2. Técnica instrumental**

###### **1.2.4.2.1. Espectroradiómetros**

Los radiómetros son usados para medir la energía electromagnética presente con una longitud de onda específica. La medición es expresada en Watts (W), la cual es una unidad de medición de energía. Los radiómetros son usados generalmente para detectar y medir la cantidad de energía afuera del espectro de luz visible y para medir la luz ultravioleta (UV) o infrarroja (IR). Los radiómetros pueden medir rápidamente porque son medidores simples que sólo usan un sensor con un filtro designado para sólo medir el rango de longitud de onda para el cual fueron creados (33).

Los espectroradiómetros son instrumentos que miden las diferentes regiones del espectro de luz, proporcionando representaciones simultáneas de amplitud en función de la longitud de onda del espectro. Poseen un sistema de medición óptica objetiva,

midiendo luz desde aproximadamente 380nm a 780nm. Debido a su alta precisión es usualmente usado como un instrumento de referencia en laboratorios de investigación y desarrollo (33). Actualmente son los sistemas más precisos para la medición del color y han empezado a ser utilizados extensivamente en investigación en odontología.

#### 1.2.4.2.2. Espectrofotómetros

Están entre los instrumentos más exactos y útiles para medición del color. Miden la energía lumínica reflectada de un objeto en intervalos de 1 a 25 nm a lo largo del espectro visible (31). Los primeros espectrofotómetros usados constaban de un solo fotodiodo detector que registraba la cantidad de luz en cada longitud de onda (34). Los equipos actuales contienen una fuente de radiación óptica, un medio de dispersión de luz, un sistema de medición óptico, un detector y un medio de conversión de la luz obtenida a partir de una señal que pueda ser analizada (31). El sistema funciona como una matriz de diodos con un elemento dedicado para cada longitud de onda, que permite la integración simultánea las mismas (24).

Los espectrofotómetros deben ser calibrados, ya que esto compensa cualquier desviación en la cantidad de iluminación emitida de la fuente interna de luz.

Hay situaciones que complican el uso de los espectrofotómetros en la toma de color dental, tales como la translucidez, que es una característica inherente a los dientes y que es difícil de medir y estandarizar y la falta de uniformidad de la superficie dental. Al parecer la curvatura de la superficie del diente no afecta la exactitud en la toma del color con el espectrofotómetro (34), sin embargo existen factores externos que pueden influenciar estas mediciones como la luz ambiente, para lo cual se utilizan medios mecánicos para bloqueo de la luz o lámparas correctoras de luz.

Los espectrofotómetros ofrecen un aumento del 33% en la precisión y una coincidencia objetiva del color en un 93,3% de los casos (35).

Según Paravina et al. 2015, el desarrollo de instrumentos de medición específicos para el uso odontológico, no es necesariamente ventajoso en comparación con los instrumentos "no odontológicos" (espectrofotómetros, espectrorradiómetros, colorímetros, instrumentos

de imagen y software), la calidad del instrumento y el método de medición del color son más importantes que su aplicación primaria (30).

El espectrofotómetro de la casa de cerámica dental alemana Vita Zahnfabrik tiene un rango de medición entre 400 y 700 nm y filtros espectrales que analizan en el espectro de remisión. Realiza lectura de todos los colores dentales en los sistemas cromáticos VITA SYSTEM 3D-MASTER® y VITA classicalA1–D4®, colores de cerámica VITABLOCS® y colores de blanqueamiento dental conforme al estándar de la ADA (American Dental Association) (36). Las aplicaciones de este dispositivo son la determinación del color para seleccionar materiales cerámicos, materiales para obturaciones directas, dientes protésicos y en zonas dentales para la confección de restauraciones cerámicas estratificadas y medición de dientes blanqueados (36).

El Vita Easyshade fue lanzado al mercado en el año 2002. Este dispositivo posee una punta de fibra óptica circular de 5 mm de diámetro, que se posiciona en contacto directo con la superficie a evaluar, mientras se hace la medición. En el año 2008, Vita comercializa el Vita Easyshade Compact, siendo un dispositivo inalámbrico, más pequeño y portátil y posteriormente en el 2011 lanzan el Vita Easyshade Advanced 4.0. al cual se le mejoró la conectividad inalámbrica, tiene un sistema para identificación de color de los bloques de cerámica y una función para medir la evolución del blanqueamiento dental. La calibración de estos espectrofotómetros en ambas versiones se realiza directamente en la máquina. La fuente luz es de origen Led.

La versión disponible más reciente es el Vita Easyshade V, con el cual adicionalmente se puede enviar la información detallada sobre el color dental del paciente, que se transmite de forma inalámbrica, se integra en una fotografía del paciente realizada con el smartphone y se envía al destinatario por medio de la aplicación para Smartphone VITA Assist basado en Microsoft Windows (37).

El espectrofotómetro Vita Easyshade presenta varias funciones o modos: medición de un solo diente, medición por zonas del diente (incisal, medio y cervical), función de verificación de color de una restauración y modo de entrenamiento.

El espectrofotómetro Vita Easyshade permite obtener una imagen de la posición del diente en el espacio cromático 3D-Master. Muestra las coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  y  $h^*$  del

espacio cromático de la medición realizada. Normalmente, estas coordenadas se expresan como valores de triestímulo: ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) o bien ( $L^*$ ,  $C^*$ ,  $h^*$ ) (38).

Vita Easyshade se conoce como el espectrofotómetro de referencia para estudios del color dental (35). Ver figura 5.



Figura 5. Espectrofotómetro Vita Easyshade. Tomado de (38).

#### 1.2.4.2.3. Colorímetro

Miden valores triestímulo y filtran la luz en las áreas roja, verde y azul del espectro visible. No registran la reflectancia espectral y tienen el problema del envejecimiento de los filtros, lo que los hace menos exactos que los espectrofotómetros.(31).

#### 1.2.4.2.4. Cámaras digitales y sistemas de imagen

Las cámaras digitales capturan imágenes usando dispositivos de carga acoplada, los cuales contienen millones de elementos microscópicos fotosensibles. (24) Estas cámaras adquieren información en rojo, verde y azul de la imagen y la utilizan para crear la imagen a color. Representan el sistema electrónico más básico para la toma del color, ya que requieren algo de selección subjetiva de color con el ojo humano. Existen programas, como el Clear Match, que utilizan imágenes de alta resolución y compara tonos del diente con referencias conocidas de color (31).



### 1.2.5. Analizador de imágenes

Son técnicas que extraen información presente en imágenes con el fin de hacer una interpretación y análisis de las mismas (39). El origen del análisis de imágenes se remonta a mediados de los años 60 en la NASA, donde se corregían por medio de un ordenador las distorsiones en las imágenes enviadas por los satélites (40). Durante los años 70 el National Institute of Health de Estados Unidos dedicó parte de sus esfuerzos al desarrollo del estudio de imágenes de rayos X, microscopia óptica y microscopia electrónica y fue hasta mitad de los años 80, que se produjo el auge de los sistemas de proceso de imágenes, debido al incremento en la potencia de los computadores y la reducción en sus costos. Actualmente existen diversos equipos y programas para procesar y analizar imágenes, desde computadores personales hasta potentes estaciones de trabajo, desde programas básicos y generales hasta programas con aplicaciones muy técnicas y específicas (19).

El análisis de imágenes se aplica en variados campos, tales como fotogrametría, demografía, bacteriología, genética, control de calidad, botánica, tráfico aéreo, grafología, fotografías de satélites, metalografía, sismología, escanografía, meteorología, oceanografía, odontología, comparación de rostros y huellas digitales (41).

Para analizar una imagen es necesario digitalizarla, que consiste en la descomposición de la imagen en una matriz de  $M \times M$  puntos, donde cada uno tiene un valor proporcional a su nivel de gris. Dado que este valor puede ser cualquiera dentro de un rango continuo, es necesario dividir dicho rango en una serie de  $k$  intervalos, de forma que el nivel de gris de cada punto sea asignado a uno de los valores que representa dicho intervalo (40). Los actuales sistemas de procesamiento digital son capaces de discriminar 256 niveles de gris, en el caso de las imágenes de 8 bits. Por ende una imagen digital es una imagen que ha sido discretizada en sus coordenadas espaciales y en su intensidad luminosa. Cuando se trata de imágenes a color la intensidad se considera un vector tridimensional cuyas componentes son las intensidades en las tres bandas espectrales: rojo, verde y azul.

Los sistemas de análisis de imágenes constan de (Ver figura 6):

- Sistema para adquisición de la imagen: son cámaras de TV en blanco y negro o color o cámaras fotográficas.
- Procesador de imágenes: se encarga de digitalizar las imágenes, almacenamiento y visualización mediante el monitor apropiado.
- Ordenador de control: son los programas de proceso de imágenes y su ejecución (40).

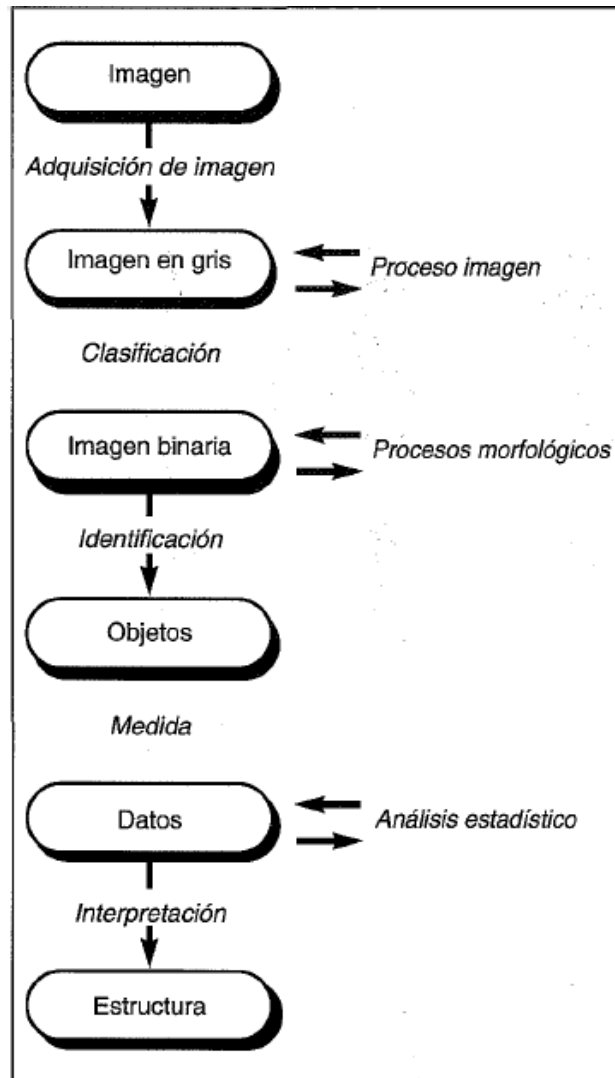


Figura 6. Principales tareas en análisis de imágenes microscópicas. 1994. Tomado de (40).

En las diferentes áreas de la salud se han utilizado los analizadores de imágenes con el fin de extraer información de las mismas con fines diagnósticos, académicos y de

investigación. Existen diferentes analizadores que son empleados para bacteriología, microbiología, odontología, entre otras áreas de la salud. Estos programas permiten realizar a las imágenes médicas ajuste de color, balance de blancos, aplicar herramientas de escala y zoom, cuantificación y medición y aplicación de filtros, entre otras funciones (42) .

### **1.3. Blanqueamiento dental**

A través de la historia se han utilizado diversas sustancias y técnicas buscando modificar el color dental. Sin embargo en las últimas décadas se ha incrementado la preocupación de los pacientes por tener dientes blancos, razón por la cual se han desarrollado materiales y procedimientos encaminados a resolver esta necesidad.

Las pigmentaciones a tratar tienen diversos orígenes, estas se clasifican en extrínsecas e intrínsecas. Las pigmentaciones extrínsecas son agentes externos que se depositan en la superficie de los dientes y las intrínsecas ocurren cuando los cromógenos se ubican en el interior del diente, generalmente en la dentina y en ocasiones son de origen pulpar o sistémico (43).

#### **1.3.1. Agentes blanqueadores**

Las sustancias utilizadas para modificar el color de los dientes se clasifican según su mecanismo de acción en agentes mecánicos, oxidantes, fisicoquímicos y remineralizantes (44).

##### **1.3.1.1. Agentes blanqueadores mecánicos**

Usualmente la higiene oral es realizada con un cepillo dental y crema dental, la cual consiste en partículas abrasivas dentro de un fluido. Por ende es una manera sencilla para el paciente de remover manchas extrínsecas. Estas partículas pueden ser carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, sílica precipitada, piedra pómez y perlita.

Durante el cepillado las partículas se atrapan en los filamentos del cepillo, lo cual facilita generar la abrasión de las manchas (45). Ver figura 7.

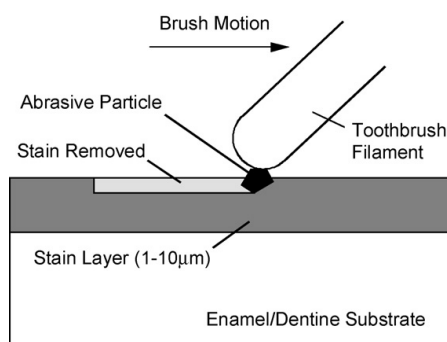


Figura 7. Remoción abrasiva de manchas. Tomada de Lewis 2007. Particle motion and stain removal during simulated abrasive tooth cleaning. (45).

### 1.3.1.2. Agentes blanqueadores oxidantes

#### 1.3.1.2.1. Peróxido de hidrógeno y peróxido de carbamida

Las pigmentaciones son producidas por los agentes cromóforos y/o inorgánicos, que son compuestos orgánicos que poseen cadenas conjugadas extendidas, alternan enlaces sencillos y dobles y con frecuencia incluyen heteroátomos carbonilo y anillos de fenilo. Dichos agentes pueden decolorarse destruyendo los dobles enlaces de la cadena conjugada, por escisión de la misma o por oxidación de otras fracciones químicas en el conjugado.

El peróxido de hidrógeno es un agente que produce oxidación de los compuestos cromóforos y una gran cantidad de compuestos inorgánicos y orgánicos a través de sus radicales libres. En condiciones alcalinas, el blanqueamiento con peróxido de hidrógeno transcurre a través del anión perhidroxilo ( $\text{HO}_2^-$ ) y en otras condiciones es a través de la escisión homolítica de cualquier enlace O-H o enlace O-O en el peróxido de hidrógeno, para formar  $\text{H} + \text{OOH}$  y  $2 \text{OH}$  (radical hidroxilo) respectivamente (46).

El peróxido de carbamida se disocia en peróxido de hidrógeno y urea cuando entra en contacto con tejido blando o saliva a temperatura oral, puede difundir a través del esmalte y dentina por su bajo peso molecular. La urea se degrada en amonio y dióxido de carbono (47). El pH alto del amonio facilita el procedimiento de blanqueamiento, ya que en una solución básica, se requiere menor activación de energía para la formación de radicales libres a partir de

peróxido de hidrógeno y la velocidad de reacción es más alta, lo que resulta en un mejor rendimiento comparado con un ambiente ácido (48).

#### 1.3.1.2.1.1. Efectos de los peróxidos en el esmalte dental

Son bastantes los estudios que reportan en la literatura los efectos deletéreos o no de los peróxidos en el esmalte dental. En el estudio microestructural de Morozov et al, 2013, se encontró erosión, formación de defectos y grietas en el esmalte sometido a peróxidos (49). Masaya et al. 2008, encontraron con microscopia electrónica de barrido en el esmalte sometido a blanqueamiento, creación de espacios entre los prismas del esmalte y prismas agrietados y con microscopía electrónica de transmisión de alta resolución encontraron desmineralización de los prismas (50). Shannon et al.1993 y Zalkind et al. 1996, encontraron cambios severos en la topografía del esmalte luego de ser tratado con peróxidos (11). Torres et al, 2010, encontró en su estudio que el esmalte de bovino tratado con peróxido de hidrógeno al 30% presentó pérdida de calcio, carbonatos, desorganización estructural y pérdida de sustancia interprismática (10).

#### 1.3.1.2.2. Peróxidos de hidrógeno y carbamida con adición de fluoruros y fosfatos de calcio

Dados los daños que ocasionan las sustancias blanqueadoras tipo peróxidos, se han agregado iones con el fin de disminuir o intentar revertir las alteraciones ocasionadas al tejido dental. Los fabricantes han agregado fosfato de calcio amorfo y iones de flúor en diferentes concentraciones con el fin de disminuir la pérdida de la dureza del esmalte y los posibles cambios morfológicos en el mismo. Se plantea que estos iones saturan la sustancia blanqueadora, lo cual permite un intercambio que repone el flúor y calcio perdidos. Teóricamente de esta manera el esmalte recupera su ácido resistencia (13).

Alexandrino et al, 2014, encontraron en su estudio que la adición de 2% de calcio al peróxido de hidrógeno al 35%, previene cambios en la dureza del esmalte y en su morfología, sin reducir la efectividad blanqueadora (13).

En el estudio de Janurudin et al, 2007, se probaron soluciones de peróxido de hidrógeno en diferentes concentraciones con adición de una hidroxiapatita sintética. En la microscopía electrónica de esmalte tratado con peróxido de hidrógeno encontraron

rugosidad en la superficie y agujeros destructivos en el esmalte, sin embargo al observar el esmalte tratado con la mezcla de peróxido de hidrógeno con hidroxiapatita, encontraron la superficie adamantina lisa debido a la cobertura de los poros en el esmalte por parte del polvo de hidroxiapatita (51).

#### 1.3.1.2.3. Perborato de sodio

Su composición química es  $\text{NaBO}_3$ , se comercializa como monohidrato y tetrahidrato. Cuando se encuentra en estado de polvo es estable y cuando está fresco contiene alrededor de 95% de perborato que corresponde a 9.9% de oxígeno disponible. En presencia de ácido, aire tibio o agua se descompone para formar metaborato de sodio, peróxido de hidrógeno y oxígeno (52) .

El perborato de sodio es estable cuando está en forma de polvo seco, en presencia de ácido, aire húmedo o agua se descompone para formar, peróxido de hidrógeno metaborato y oxígeno (43).

No existen tantos estudios sobre el perborato de sodio, con respecto a los peróxidos de hidrógeno y carbamida, ya que este agente no fue tan utilizado en una época y que tenía muy poca estabilidad durante el almacenamiento. Gracias a un recubrimiento que se desarrolló para este material, ese inconveniente fue superado (53).

#### 1.3.1.3. Agentes blanqueadores fisicoquímicos

##### 1.3.1.3.1. Agentes blanqueadores ópticos

##### 1.3.1.3.1.1. Azul de covarina

Consiste en una estructura de anillo de talocianina, con un ion central de cobre fuertemente unido. Ver figura 8.

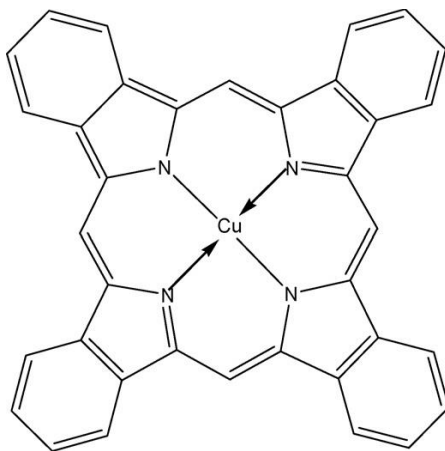


Figura 8. Estructura química del azul de covarina. Tomada del artículo, A novel optical approach to achieving tooth whitening. Joiner, A. 2008 (54).

El azul de covarina se deposita en la superficie del diente, generando cambios en el rango azul amarillo, mejorando lo que mejora considerablemente el color del diente, le da un aspecto más claro, medido por el índice WIO (55). En el estudio de Joiner et al, 2008, los dientes tratados con azul de covarina in vitro, mostraron la mayor reducción en el valor del parámetro  $b^*$  (CIE Lab) con respecto a otros agentes probados, lo que indica un cambio en la escala de los colores amarillo azul (54).

#### 1.3.1.3.2. Agentes Blanqueadores por disolución de esmalte

##### 1.3.1.3.2.1. Pirofosfato de sodio soluble

Es un constructor activo de superficie de fosfato de calcio (CASFC), remueve manchas y previene su formación, sobre todo en zonas de difícil acceso del cepillo dental. A partir de los años 80 se empezaron a adicionar estos componentes a las cremas dentales (16).

El pirofosfato de sodio soluble, retrasa la formación de manchas y de cálculo. Este tipo de compuestos tienden a adherirse a sales de calcio solubles, tal como el fosfato de calcio presente en los tejidos dentales y en el cálculo dental. Los CASFC son capaces de remover partes de proteínas de las sustancias cromóforas e inhiben la mineralización de la placa dental. Frecuentemente se utilizan en las cremas dentales en forma de polifosfatos y no los análogos pirofosfatos de bajo peso molecular, debido su mayor seguridad y actividad (16).

Gerlach, et al, en su estudio del 2002, evaluaron en pacientes el uso de una crema dental experimental que contenía hexametofosfato y pirofosfato soluble, la cual fue comparada con una crema abrasiva a base óxido de aluminio y una crema control con fluoruro de sodio. Alternaron con el uso de las cremas clorhexidina y té como agentes pigmentantes. Para evaluar la presencia de manchas se aplicó el test de Lobene a los pacientes, a las tres y seis semanas. Como resultado encontraron disminución en la cantidad de pigmentaciones en un 33% en el grupo tratado con la crema experimental, con respecto al grupo control. La crema con óxido de aluminio no fue estadísticamente superior en el manejo de la manchas, con respecto al grupo control (16).

#### 1.3.1.3.2.2. Hexametafosfato de sodio

Polvo blanco, de flujo libre, inodoro e insaboro. El hexametafosfato del sodio actúa como sal secuestrante, neutra y agente defloculante. Es un estabilizador, espesante y tensoactivo (56).

Se reporta su efectividad para tratar pigmentaciones extrínsecas dentales. Se ha utilizado en presentación de crema y enjuague bucal. Tal es el caso del trabajo de Pentapati et al (2014), en el cual se evaluó en dientes extraídos un enjuague bucal con contenido de hexametafosfato de sodio, extracto de aloe, clavo, mentol y otros aditivos. Los dientes fueron sumergidos en una solución de té y previo a esto se grabaron con ácido fosfórico al 37%, para favorecer la formación de manchas. Posteriormente se trataron los dientes con el enjuague experimental durante un minuto por 14 días. El cambio de color se evaluó tomando fotografías a los especímenes y analizándolas con el programa Adobe Photoshop version 8.0, el cual trabaja con sistema CIE Lab. Como resultado se encontró incremento significativo en el valor de L de los dientes a los 14 días y una disminución en de los parámetros a y b del color (57).

#### 1.3.1.4. Agentes blanqueadores remineralizantes

##### 1.3.1.4.1. Fosfato de calcio amorfo (ACP)

Se observa como pequeñas partículas esféricas a la microscopia electrónica. En medio acuoso se convierte con facilidad en fases cristalinas como el fosfato octacálcico y



apatita. La evidencia científica ha demostrado que el fosfato de calcio amorfo (ACP) es osteoconductor y mejora la proliferación celular y promueve la adhesión celular. Sus características lo hacen un material prometedor para reparación y regeneración tisular, como también como agente remineralizante (58). El fosfato de calcio amorfo, es uno de los componentes de los huesos (59).

El ACP se ha agregado a cremas dentales, enjuagues, chicle, productos de aplicación tópica y agentes blanqueadores, con el fin de generar deposición de calcio en los dientes. El mecanismo de remineralización ocurre por precipitación del ACP sobre los defectos y su hidrólisis para formar apatita (37).

El ACP fue desarrollado por la ADAF (American Dental Association Foundation) indicado para el manejo inicial de la caries y más adelante la ADAF lo recomendó para manejo de la sensibilidad dental, por su capacidad de obliterar los túbulos dentinales. El ACP se ha agregado a varios agentes blanqueadores tipo peróxidos con el fin de disminuir los efectos lesivos en los mismos en la superficie del esmalte (60).

Rodrigues, et al, en el 2011, evaluaron in vitro el efecto del ACP añadido varios a agentes blanqueadores tipo peróxidos, en la dureza y rugosidad del esmalte tratado. Realizaron aplicaciones y pruebas a diferentes tiempos (7, 14 y 21 días), posteriormente almacenaron los especímenes en saliva artificial y realizaron pruebas a los 7 y 14 días. Como resultado no hubo diferencias significativas en la dureza de los dientes tratados con los peróxidos y los tratados con ACP + peróxidos; sólo los peróxidos de mayor concentración generaron rugosidad superficial en el esmalte, el peróxido con ACP tuvo una tendencia a disminuir la rugosidad pero esto fue realmente significativo a los 14 días en saliva artificial, es decir que ese efecto en el esmalte fue principalmente provocado por la saliva como agente remineralizante (60).

#### 1.3.1.4.2. Hidroxiapatita sintética

La hidroxiapatita es el principal componente inorgánico de los huesos y también se encuentra en el esmalte y dentina; es biocompatible, osteoconductiva, estable químicamente y no es tóxica. Por sus propiedades se ha utilizado en diversos campos médicos, como en el reemplazo de pequeñas zonas de hueso, recubrimiento de implantes, liberador de medicamentos, entre otros. La hidroxiapatita generalmente se

obtiene por precipitación, ya que es el método más reproducible y económico (61). Ver figura 9.

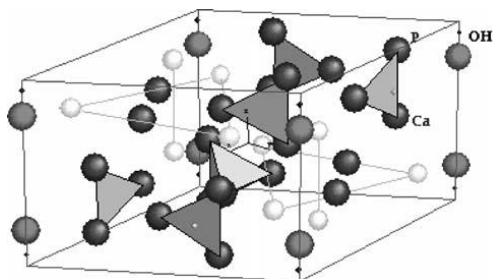


Figura 9. Estructura de la hidroxiapatita. Tomada del artículo, Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. Londoño, M. 2006 (61).

La hidroxiapatita ha sido incluida en cremas dentales con el fin de prevenir la caries, tratar la enfermedad periodontal y disminuir la halitosis. Existen estudios en los cuales se ha evaluado el efecto de estas cremas en el color dental. Niwa y Sato en su estudio del 2001, evaluaron una crema dental con hidroxiapatita, la cual fue usada por pacientes a concentraciones de 3% y 15%, se realizaron mediciones con un colorímetro antes del tratamiento y a las dos semanas, un mes y seis meses de uso. Como resultado encontraron un aumento en el valor de los dientes tratados, siendo mayor con la concentración de 15%. Esto podría explicarse por el efecto remineralizante (62).

Dabanoglu, et al, en el 2009 evaluaron el efecto de diferentes preparaciones de hidroxiapatita en el color dental y la estabilidad de la película formada en la superficie en el esmalte. Evaluaron in vitro, una suspensión de nano-hidroxiapatita, nano-hidroxiapatita cristalina, fosfato tricálcico en polvo y nano-hidroxiapatita integrada a una película polimérica. Realizaron medición del color con una espectrofotómetro Vita Easy Shade, teniendo como parámetro del cambio de color el valor de delta E; la toma de color se realizó pretratamiento, y cada 24 horas luego de la aplicación de las sustancias durante 4 días. Se realizó cepillado de las superficies tratadas con un cepillo dental sónico, para probar la estabilidad de unión de la hidroxiapatita. Finalmente las superficies tratadas se observaron a la microscopia electrónica. Los autores encontraron que todas las formas probadas de hidroxiapatita produjeron un cambio estadísticamente significativo en el parámetro delta E de los diente tratados y que se generó una capa de hidroxiapatita adherida al esmalte, incluso resistente al cepillado (63).

Jin, et al, en el 2013, evaluaron el efecto en el color dental de varias formulaciones basadas en fosfatos de calcio, in vitro. Utilizaron una suspensión de zinc-carboapatita en tres concentraciones, suspensión de fosfato tricálcico en tres concentraciones, zinc-carboapatita en pasta y como control una crema blanqueadora abrasiva existente en el mercado. Posterior a la aplicación de las sustancias, se cepilló el esmalte tratado con un cepillo sónico. Se midió el color con un espectrofotómetro Vita Easy Shade pretratamiento y cada 24 horas luego de la aplicación de las sustancias durante 4 días. Las variaciones son medidas mediante el delta E. También se realizó evaluación de las superficies tratadas con microscopio electrónico. En este estudio se encontró que la suspensión de fosfato tricálcico al 10%, produjo el cambio más marcado de color y la zinc-carbonato-apatita mostró los menores valores de cambio de color, además observaron que el efecto no es dosis dependiente. En la microscopia electrónica se encontró que los diferentes fosfatos de calcio fueron capaces de adherirse al esmalte (15).

El cambio de color dental por la hidroxiapatita ocurre por el color blanco de la misma y porque la formación de una capa mineralizada genera una mayor reflexión de la luz, que da un aspecto brillante al esmalte (63)(15).

1.3.1.4.3. Sustancia blanqueadora experimental probada en anterior estudio del grupo de investigación GRAMO Universidad Nacional de Colombia

La sustancia remineralizante es una sustancia biomimética, se compone de dos sustancias un acondicionador modificado y una remineralizante. La sustancia remineralizante está formada por iones calcio, fosfato y otros iones que hacen parte de la composición del esmalte dental, con un tamaño de partícula aproximado de 5-15µm determinado con imagen de microscopia electrónica de barrido a 500X (17).

Esta sustancia fue probada sobre 104 dientes humanos extraídos, durante seis horas. Se evaluaron dos composiciones de la sustancia: 50% remineralizante con 50% de acondicionador y 90% remineralizante con 10% de acondicionador. Se tomaron lecturas pre y postratamiento con un espectrofotómetro Vita Easys shade. Se encontró que además de su capacidad remineralizante, la sustancia tiene la capacidad de modificar las variables L\*, a\* y b\* del color dental. La Sustancia probada con 90% remineralizante y

10% de acondicionador, afectó las variables b y E y la sustancia con 50% de remineralizante y 50% de acondicionador, afectó las variables a, b y el índice de blanqueamiento WIO. Respecto a la variable a\* de los dientes tratados, se encontró aumento, es decir una tendencia hacia el rojo. La variable b\* también aumentó, presentando una tendencia hacia el amarillo. El L\* aumentó con el uso de la sustancia blanqueadora experimental. (64)

En otro estudio realizado por el mismo grupo de investigación, se evaluó químicamente y espectrofotométricamente el efecto de la Sustancia remineralizante blanqueadora experimental, sobre el esmalte humano tratado. La muestra fue de 40 dientes humanos, los cuales dividieron en cuatro grupos: grupo sin tratamiento, grupo tratado con peróxido de hidrógeno al 35%, grupo tratado con la sustancia remineralizante experimental y grupo tratado con peróxido de hidrógeno al 35% y después con la sustancia remineralizante experimental. Se realizaron mediciones de color con un espectrofotómetro Vita Easy Shade antes y después del tratamiento, adicionalmente se realizaron pruebas de espectrometría infrarroja transformada de Fourier y difracción de Rayos X, a muestras de polvo extraídas de la superficie del esmalte de los dientes de los diferentes grupos, Como resultado encontraron que la sustancia remineralizante blanqueadora experimental disminuyó las variables L\* y b\* del color del esmalte tratado(disminución de la luminosidad y tendencia a tonos menos amarillos) y aumento la variable a\* (tendencia hacia tonos rojos). En el análisis químico de los dientes tratados con la sustancia remineralizante blanqueadora experimental, se encontró que el uso de la misma, evita que disminuya el componente proteico del esmalte, evita que disminuya la banda amida A y protege el contenido inorgánico, ya que no encontraron cambios en la banda de fosfatos (18).

La principal falencia de la sustancia blanqueadora remineralizante experimental es que no se obtiene un color homogéneo en la superficie tratada, sino que por el contrario se generan parches.

### **1.3.2.Evaluación del blanqueamiento**

Existen índices que se han desarrollado para evaluar la blancura de materiales en investigación y en la industria. En odontología se han usado para evaluar la eficacia de los agentes blanqueadores dentales.

El índice CIE WIC se basa en el sistema CIE 1931 XYZ y el índice WI se desarrolló de acuerdo a la norma ASTM E-313-73. El índice WIO, índice optimizado de blanqueamiento fue desarrollado específicamente para odontología, este índice ha sido muy empleado en investigación y evaluación de blanqueamiento dental (65).

Pérez et al en el 2016, reportaron el desarrollo de un nuevo índice, el índice de blanqueamiento personalizado para odontología ( $WI_D$ ), basado en CIELAB, lo cual es favorable ya que es el espacio de color más usado. Este índice fue diseñado específicamente para odontología y se correlaciona con los hallazgos visuales. En el mencionado estudio encontraron que el  $WI_D$  se comportó mejor que el índice WIC y el WIO, y tuvo la mejor correlación con los juicios visuales (65).

La fórmula del índice  $WI_D$  es  $WI_D = 0,511L^* - 2,324a^* - 1,100b^*$ . Valores positivos altos indican mayor blancura y viceversa (65).

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar in vitro el efecto de una sustancia remineralizante experimental, sobre el color del esmalte dental mediante espectrofotómetro Vita Easy Shade.

### **2.2. Objetivos específicos**

Identificar si la homogeneidad en el color de la superficie blanqueada se relaciona con las propiedades del esmalte o de la sustancia remineralizante.

Modificar la sustancia remineralizante experimental probada en estudio anterior, con el fin de mejorar la homogeneidad de la superficie blanqueada.

Evaluar la influencia de la viscosidad y la tensión superficial de la sustancia remineralizante, sobre la homogeneidad en el color del esmalte dental.

Cuantificar el cambio de color en el esmalte dental tratado con una sustancia remineralizante experimental modificada.

Comparar resultados según parámetros CIE Lab de la sustancia remineralizante experimental modificada, con respecto a la sustancia remineralizante desarrollada en el anterior estudio

### 3. Materiales y métodos

Para el desarrollo de esta tesis se hizo un ensayo preliminar en dientes bovinos y un ensayo definitivo en dientes humanos.

- Tipo de investigación: Experimental-Analítico.
- Campo de estudio: Materiales dentales.
- Variables del estudio:

VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA	TIPO
Color	L*, a* y b*	Independiente continua
Cambio de color	Diferencia de color Delta E Diferencia de color CIEDE 2000 Índice de Blanqueamiento WID	Independiente continua
Porcentaje de Homogeneidad	% (porcentaje)	Independiente continua
Porcentaje de bordes	% (porcentaje)	Independiente continua

Tabla 1. Variables del estudio

- Hipótesis planteadas:
- Hipótesis nula 1: La homogeneidad en el color del esmalte tratado no depende de la viscosidad de la sustancia blanqueadora experimental.
- Hipótesis nula 2: La homogeneidad en el color del esmalte tratado no depende de la tensión superficial de la sustancia blanqueadora experimental.
- Hipótesis nula 3: La sustancia blanqueadora experimental no influye en el color del esmalte dental.

## 3.1 Ensayo preliminar

### 3.1.1. Objetivo del ensayo preliminar

Identificar si la viscosidad y la tensión superficial de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental, tienen influencia en la homogeneidad del color del esmalte tratado en dientes bovinos.

### 3.1.2. Desarrollo

#### 3.1.2.1. Obtención y limpieza de la muestra:

Se seleccionaron 30 dientes bovinos, obtenidos en el frigorífico de la ciudad de Zipaquirá, se les realizó la limpieza, desinfección y almacenamiento según protocolos establecidos por el Biobanco de Dientes Universidad Nacional de Colombia (66) Ver figura 10. Los dientes permanecieron en una solución de cloramina T al 0,5% a 22 °C por un tiempo de un mes. Una semana antes de iniciar el tratamiento se pusieron en saliva artificial. La saliva artificial utilizada fue elaborada para el estudio, su composición fue:  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

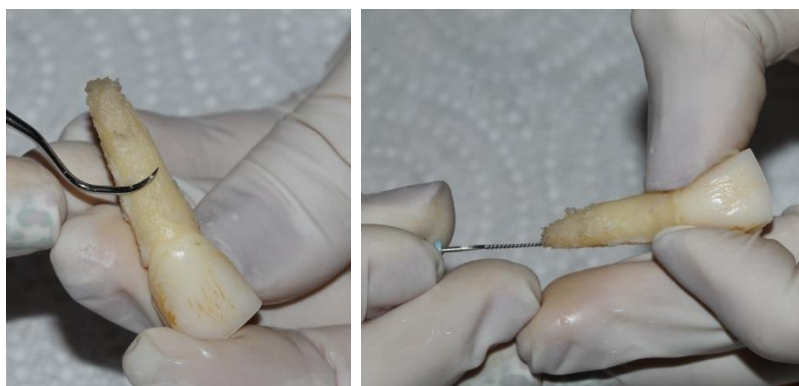


Figura 10. Limpieza de los dientes bovinos

#### 3.1.2.2. Elaboración de las sustancias a evaluar

Se elaboraron cuatro tipos de Sustancias remineralizantes blanqueadoras experimentales: La sustancia remineralizante blanqueadora experimental probada en estudio previo (sin modificaciones), la sustancia remineralizante blanqueadora



experimental con modificación de tensión superficial, la sustancia remineralizante blanqueadora experimental con modificación de viscosidad y la sustancia remineralizante blanqueadora experimental con modificación de tensión superficial y viscosidad. Ver tabla 2.

Las sustancias remineralizantes blanqueadoras experimentales, están formadas por iones de calcio, fosfato y otros iones que hacen parte de la composición del esmalte dental, con un tamaño de partícula aproximado de 5-15 $\mu$ m. Se componen de un polvo base y una sustancia activadora específica. Para su preparación, se molió el polvo base con mortero y pistilo, y se mezcló con la sustancia activadora. Para las sustancias que se modificó la viscosidad, se agregó polivinilalcohol como agente viscosante y para las sustancias que se modificó la tensión superficial se agregó laurilsulfato de sodio como tensoactivo. La consistencia final de todas las sustancias fue de pasta.

Adicional a las sustancias experimentales, se evaluó en el estudio el peróxido de hidrógeno Pola Office® como agente blanqueador comercial y un grupo de dientes sin tratamiento.

GRUPO	TRATAMIENTO
C	Sin tratamiento (control)
SRBE	Sustancia remineralizante blanqueadora experimental
SRBEv	SRBE con viscosidad modificada
SRBEt	SRBE con tensión superficial modificada
SRBEvt	SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas
PH	Peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office ®

Tabla 2. Sustancias a evaluar

### 3.1.2.3. Medición de la tensión superficial de las sustancias experimentales

Se midió la tensión superficial a los compuestos utilizados en la preparación de las diferentes sustancias experimentales aplicadas a los dientes: Agua, solución activadora de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental (sustancia previa), polivinil Alcohol (viscosante), laurilsulfato de sodio (tensoactivo), mezcla laurilsulfato de sodio y

polivinil Alcohol. Para conocer la tensión superficial de la sustancia probada en el estudio anterior con respecto a las sustancias modificadas en este estudio.

Se utilizó para este fin un tensiómetro de Anillo de de Du Nouy marca Fisher semiautomático, del Grupo de Electroquímica, ubicado en el edificio del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, el cual fue previamente calibrado.. Ver figura 11.



Figura 11. Tensiómetro de Anillo de de Du Nouy del Grupo de Electroquímica, Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

#### 3.1.2.4. Medición de la viscosidad de las sustancias experimentales

Se midió la viscosidad de las sustancias experimentales modificadas, sustancia blanqueadora experimental con viscosidad modificada (SRBEv), sustancia blanqueadora experimental con tensión superficial modificada (SRBEt) y sustancia blanqueadora experimental con viscosidad y tensión superficial modificadas (SRBEvt), así como también se midió la viscosidad del Peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office ® (PH). Las mediciones se realizaron en un Reómetro de cono y plato, marca comercial Bohlin C-VOR. Ubicado en el Laboratorio de Polímeros del Departamento de Ingeniería Química, de la Universidad Nacional de Colombia. Ver figura 12.

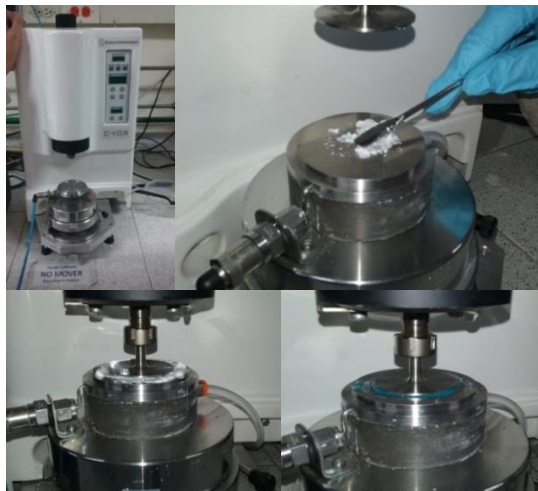


Figura 12. Mediciones viscosimetría en reómetro de cono y plato, Bohlin C-VOR.

#### 3.1.2.5. Tratamiento de la muestra

Los especímenes se dividieron en seis grupos al azar ( $n=5$ ), de la siguiente manera, ver tabla 3.

GRUPO	TRATAMIENTO	TIEMPO
<b>C</b>	Sin tratamiento (control)	Sin tratamiento
<b>SRBE</b>	Sustancia remineralizante blanqueadora experimental	Tratamiento durante 12 horas
<b>SRBE<sub>v</sub></b>	SRBE con viscosidad modificada	Tratamiento durante 12 horas
<b>SRBE<sub>t</sub></b>	SRBE con tensión superficial modificada	Tratamiento durante 12 horas
<b>SRBE<sub>vt</sub></b>	SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas	Tratamiento durante 12 horas
<b>PH</b>	Peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office ®	Dos aplicaciones, cada una de 8 minutos

Tabla 3. Grupos experimentales del ensayo piloto.

Se realizaron cuatro marcas en el tercio medio de la cara vestibular de los dientes, con una fresa redonda de carburo montada en una pieza de alta velocidad NSK a 200.000 rpm con el fin de delimitar el área de trabajo de 6 x 6 mm. Las marcas en todos los dientes fueron realizadas por el mismo operador. Previo secado con un papel

absorbente, se tomó el color inicial a los 30 dientes, con el Espectrofotómetro Vita Easy Shade previamente calibrado.

Se aplicó el tratamiento a los dientes, según el grupo al que correspondía. Los grupos de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental se trataron de la siguiente forma: se realizó la preparación de la sustancia remineralizante, por molienda del polvo base y mezcla con la sustancia activadora específica para obtener una consistencia de pasta. Se aplicó la sustancia a los dientes bovinos según el grupo en la zona demarcada y se procedió a cubrirlos con papel absorbente impregnado en la sustancia activadora y papel de vinilo, para evitar evaporación. Se dejó actuar la sustancia durante 12 horas, y se removió agua desmineralizada. Se pulieron las muestras con discos de óxido de aluminio de grano fino, marca Shofu®, montados en una pieza de mano de baja velocidad NSK. Posteriormente los dientes se colocaron de nuevo en saliva artificial. Ver figura 13.

A los dientes del grupo 6 se realizaron dos aplicaciones de peróxido de hidrógeno, marca comercial Pola Office®, cada aplicación de 8 minutos, el producto fue removido con agua desmineralizada, para posteriormente sumergir de nuevo los dientes en saliva artificial. Ver figura 14.

Posterior a los tratamientos mencionados, se realizó una nueva toma de color a los 30 dientes con el Espectrofotómetro Vit Easy Shade en las mismas condiciones de la toma inicial, un mes luego de la aplicación de las sustancias.

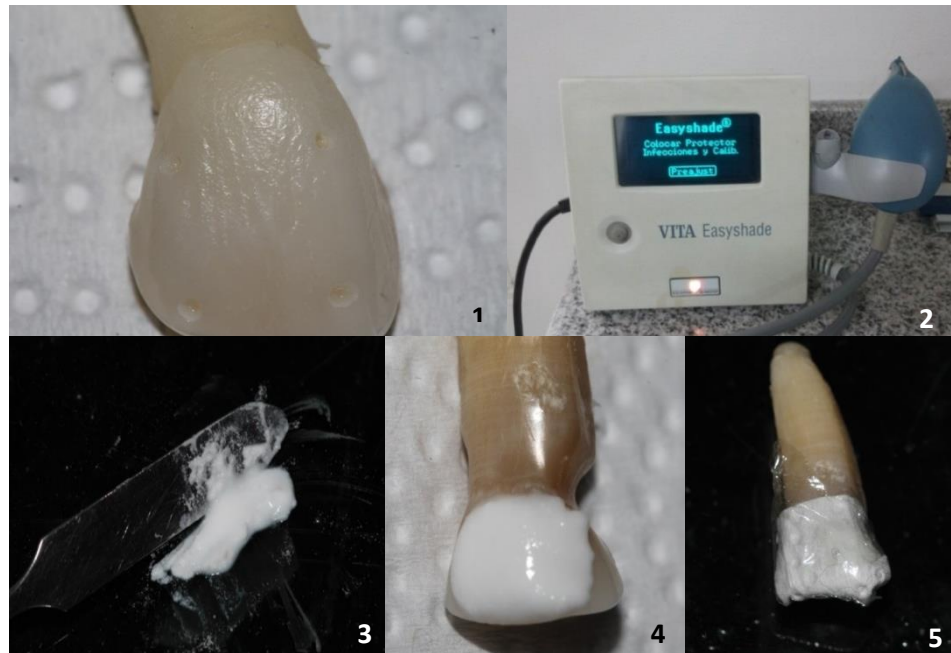


Figura 13. Secuencia de tratamiento de la muestra. (1.) Demarcación de la zona a tratar. (2.) Toma de color con Espectrofotómetro Vita Easy Shade. (3.) Preparación de la Sustancia Remineralizante Blanqueadora Experimental. (4.) Aplicación de las sustancias experimentales. (5.) Cubrimiento de especímenes para evitar evaporación de las sustancias.



Figura 14. Tratamiento con peróxido de hidrógeno, marca comercial Pola Office®

### 3.1.2.6. Toma de fotografías

Se tomaron fotografías de la superficie vestibular de los 30 dientes bovinos, con un estereomicroscopio marca Nikon, modelo: SMZ800, ubicado en el Laboratorio de ensayos mecánicos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Colombia, Ver figura 15. Se realizaron varios ensayos para determinar las condiciones ideales para la toma de fotografías, buscando la mayor nitidez y contraste. Se definieron unas condiciones estandarizadas para el equipo: *hue: 0, contraste: standart, black level: 0* y

poniendo la función *ajuste de blancos*. Se trabajó con un aumento de 1X y a la distancia ya estandarizada por la altura del lente en el estereomicroscopio. Se elaboró una caja de cartulina negra, con el fin de cubrir la zona donde se ubica el espécimen y donde se encuentra el lente del estereomicroscopio y adicionalmente se empleó una tela negra completamente opaca, que se ubicó cubriendo todo el equipo, las dos últimas condiciones con el fin de eliminar la luz ambiente. Para la toma de las fotografías se empleó una luz transmitida por fibra óptica adaptable al equipo, con dos puntos de incidencia de luz, para evitar que se generaran brillos en la superficie de los dientes y que dificultara la interpretación de las imágenes. Se capturaron fotografías de cada uno de los 30 dientes, en las condiciones mencionadas.



Figura 15. Estereomicroscopio marca Nikon, modelo: SMZ800, ubicado en el Laboratorio de ensayos mecánicos de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Colombia.

#### 3.1.2.7. Analizador de imágenes

Para analizar las imágenes se utilizó un programa de uso libre Image J (programado en Java y desarrollado en el National Institutes of Health) y se realizaron pruebas en las que se evidenció que si es posible la cuantificación de zonas de color con el mismo. La desventaja de este programa, es que depende de la habilidad del operador para señalar por contraste las zonas a medir.

El grupo de investigación MindLab del Departamento de Sistemas de la Facultad de Ingeniería, desarrolló un programa específico para el análisis de imágenes de esta investigación. Este programa es automático, se basa en el ajuste de curvas por la regresión de Kernel Ridge y no requiere ninguna acción por parte del operador, diferente a abrir las fotos. Con este programa se obtienen dos datos como resultado de análisis de

una imagen, porcentaje de homogeneidad (porcentaje del total del área blanqueada) y porcentaje de bordes (cantidad de manchas) que buscan cuantificar la homogeneidad en el color de los dientes. Por ende a mayor porcentaje de homogeneidad y menor porcentaje de bordes, mayor es la homogeneidad. Se seleccionó este último programa por ser muy específico para los objetivos del estudio, el análisis no depende del operador y es reproducible.

Se procedió a preparar las fotos digitales para el análisis, recortándolas con el fin de eliminar la zona de las marcas que delimitan del área de trabajo, ya que al depositarse las sustancias allí, se observan con un alto valor que podría afectar el análisis. El área de trabajo demarcada en los dientes fue de 6 mm. Ver figura 16. Para esta modificación a las fotografías se descargó de internet el programa Smart Capture. Una vez listas las fotografías se analizaron con el programa mencionado. Ver figura 17.

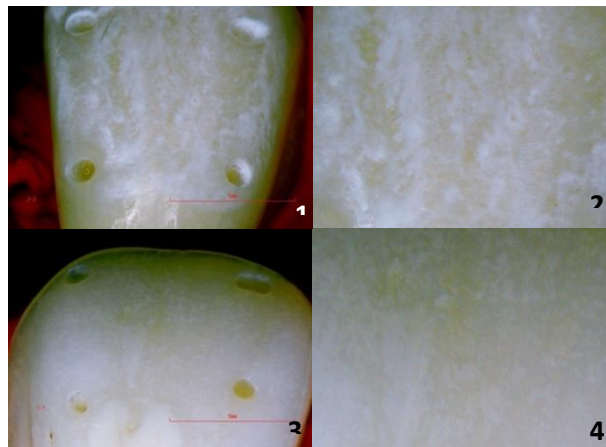


Figura 16. Fotografías de dientes bovinos obtenidas con el estereomicroscopio. (1 y 3.). Recorte de las fotografías para ser ingresadas al programa (2 y 4.)

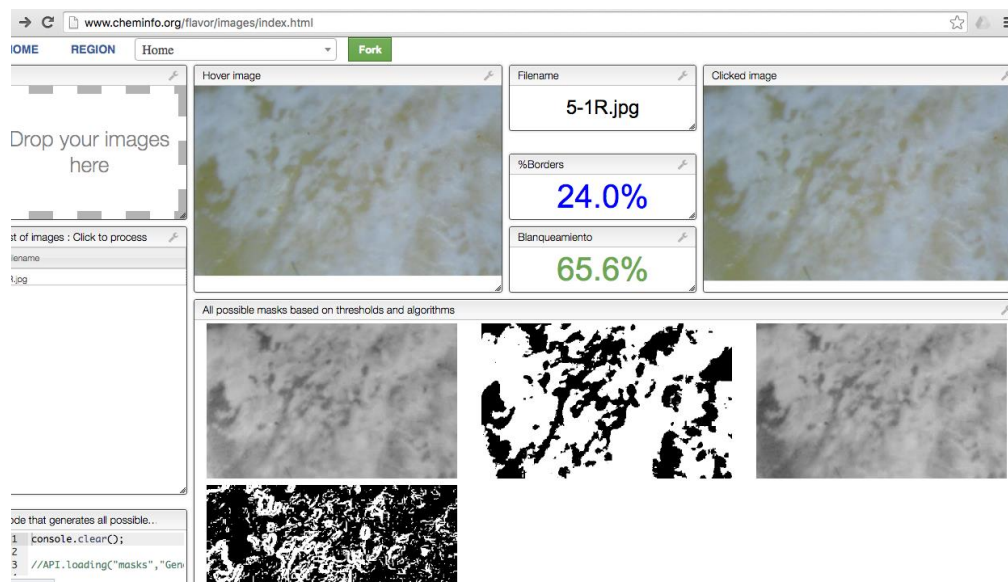


Figura 17. Programa analizador de imágenes procesando fotos de muestras. Se observa en la figura un porcentaje de color azul que representa el porcentaje de bordes y un porcentaje de color verde que representa el porcentaje de homogeneidad.

### 3.1.2.8. Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos del color y del analizador de imágenes se reunieron en una base de datos. Para el análisis estadístico se determinaron los siguientes objetivos

- Determinar si hay diferencias significativas entre L, a y b antes y después del tratamiento en cada uno de los grupos.
- Si hay diferencias, determinar si L, a y/o b aumenta o disminuye después de haber realizado el tratamiento.
- Determinar si hay diferencias entre el % de bordes y el % de homogeneidad entre los grupos después de haber aplicado el tratamiento.

### Metodología de Análisis

Para determinar si hay diferencias significativas entre las variables L,  $a^*$  y  $b^*$  se realiza el ajuste de un modelo de medidas repetidas a dos vías de clasificación, así como modelos de regresión lineal simple para los especímenes dentro de cada uno de los grupos. Las pruebas se realizan para L,  $a^*$  y  $b^*$  dentro de cada una de las muestras así como para la variable.



La ecuación que muestra a continuación indica la distancia euclidiana bidimensional entre las medidas  $a^*$  y  $b^*$  después de haber realizado el tratamiento y este último se le aplica una prueba de Tukey que permite determinar la existencia de diferencias significativas entre pares de grupos de tratamiento, así como cuál de ellos se encuentra más cercano del punto (0,0). Ver ecuación

$$C = \sqrt{(A_{post})^2 + (B_{post})^2}$$

Un análisis de varianza (ANOVA) a una vía de clasificación se utiliza para verificar diferencias significativas entre  $\Delta a, \Delta b$  y  $\Delta C$  entre cada uno de los grupos, identificando cuales grupos son estadísticamente distintos entre ellos, donde

$$\Delta C = \sqrt{(A_{post} - A_{pre})^2 + (B_{post} - B_{pre})^2}$$

La ecuación indica la distancia bidimensional entre los tratamientos observados mediante las variables  $a$  y adicionalmente para verificar las diferencias entre % de bordes y el % de blanqueamiento entre los grupos después de haber aplicado el tratamiento, se realiza un análisis de regresión Beta el cual es más adecuado que un análisis ANOVA ya que tiene en cuenta la naturaleza de la variable (está restringido en el intervalo 0%, 100%).

## 3.2 Ensayo definitivo

### 3.2.1. Desarrollo

Previo aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, se recolectaron 60 dientes terceros molares humanos sanos, extraídos por indicación ortodóntica. Los donantes firmaron un consentimiento informado, previa lectura de una cartilla informativa que se les proporcionó. Los pacientes donantes fueron atendidos en las Clínicas de Cirugía de Pregrado y Posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia, IPS Asistir Salud, Fundación Médica Mira Tu Salud, Clínica Odontológica Intermedical, Consultorio particular Carolina Torres, Martha Forero y Alejandro Morales. Los especímenes fueron seleccionados según los criterios de inclusión (terceros molares recién extraídos por indicación

ortodóntica, dientes sanos) y exclusión (dientes con alteraciones del desarrollo como hipoplasias y amelogénesis imperfecta, historia de fracturas, presencia de caries y que hayan sido sometidos a tratamientos adhesivos, blanqueamientos, rehabilitación o endodoncia).

### 3.2.1.1. Limpieza y desinfección de la muestra

Luego de recolectar las muestras, se realizó la fase de limpieza, desinfección y almacenamiento según protocolos del Biobanco de Dientes de la Universidad Nacional de Colombia (66), Posteriormente se almacenaron en Cloramina T al 0.5 % durante 6 meses y posteriormente se sumergieron en saliva artificial durante un año y medio. La saliva artificial utilizada fue elaborada para el estudio, su composición fue:  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , NaCl,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

### 3.2.1.2. Tratamiento de la muestra

Según análisis de resultados de ensayo piloto se definieron los grupos experimentales ver tabla 4.

GRUPO	TRATAMIENTO	TIEMPO
<b>C</b>	Sin tratamiento (control)	Sin tratamiento
<b>SRBE</b>	Sustancia remineralizante blanqueadora experimental	Tratamiento durante 6 horas
<b>SRBE<sub>v</sub></b>	SRBE con viscosidad modificada	Tratamiento durante 6 horas
<b>SRBE<sub>t</sub></b>	SRBE con tensión superficial modificada	Tratamiento durante 6 horas
<b>SRBE<sub>vt</sub></b>	SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas	Tratamiento durante 6 horas
<b>PH</b>	Peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office ®	Dos aplicaciones, cada una de 8 minutos

Tabla 4. Grupos experimentales de ensayo definitivo en dientes humanos.

La metodología de tratamiento de la muestra es similar al reportado en el ensayo piloto (Ver figura 18). Adicionalmente en este ensayo definitivo se tomaron fotografías de los 60

dientes pre y postratamiento, se hizo una medición de color con técnica visual pre y postratamiento y se determinó un tiempo de tratamiento de 6 horas.

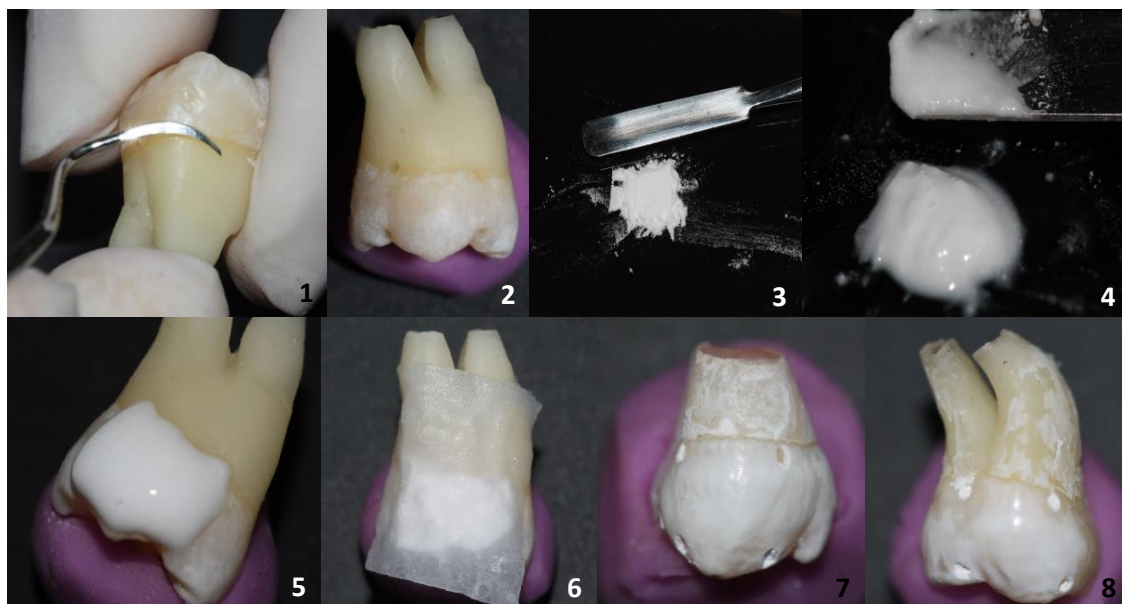


Figura 18. Secuencia de tratamiento de la muestra de dientes humanos para pruebas finales. (1.) Limpieza y desinfección. (2.) Demarcación de área de trabajo. (3.) Fase sólida (polvo) de las Sustancias Remineralizantes Blanqueadoras Experimentales. (4.) Preparación de las sustancias experimentales. (5.) Aplicación de sustancias experimentales. (6.) Cobertura de la muestra para evitar evaporación. (7 y 8.) Imágenes finales de dientes tratados con las sustancias experimentales.

### 3.2.1.3. Análisis estadístico

Los datos obtenidos del color y del analizador de imágenes se reunieron en una base datos. Para el análisis estadístico se determinaron los siguientes objetivos

- Determinar si hay diferencias significativas entre L, a y b antes y después del tratamiento en cada uno de los grupos.
- Si hay diferencias, determinar si L, a y/o b aumenta o disminuye después de haber realizado el tratamiento.
- Determinar si hay diferencias entre el índice de Blanqueamiento WID antes y después de tratamiento.
- Comparar entre los grupos experimentales la diferencia de cambio de color CIEDE 2000.
- Determinar si hay diferencias entre el % de bordes y el % de homogeneidad entre los grupos después de haber aplicado el tratamiento.

Determinación del tamaño de la muestra para ensayo definitivo con dientes humanos:

Se determinó el tamaño muestral por medio de la evaluación de la potencia de la prueba de la variable Delta E. La potencia de una prueba estadística es la probabilidad que la hipótesis nula sea rechazada cuando la hipótesis alternativa es verdadera, es decir la probabilidad de no cometer un error del tipo II. A medida que aumenta la potencia, las posibilidades de que se presente un error del tipo II disminuyen.

La muestra consta de 60 especímenes repartidos en seis grupos de a 10 individuos, utilizando la metodología propuesta por Cohen (67), se considera que el efecto calculado para Delta E es del 83% lo cual es alto ya que supera el 80% (68), esto indica que la potencia de la prueba es alta (99%).

El efecto es una medida de la fuerza de un fenómeno, es la variación de un grupo con un tratamiento, respecto a la variación total. El efecto de 83 % en el caso del presente estudio, quiere decir que la variación de los resultados depende en un 83% de los tratamientos y en un 17% depende de características propias de los individuos.

Lo cual indica que el tamaño muestral utilizado es más que suficiente para realizar una prueba de análisis de varianza para establecer diferencias en la variable Delta E.

## 4. Resultados

### 4.1. Primer objetivo específico y tercer objetivo específico.

#### 4.1.1. Resultados Ensayo Piloto

Los resultados del análisis de regresión beta, del porcentaje de homogeneidad (total de área blanqueada) y el porcentaje de bordes (cantidad de manchas), se muestran en la figura 19 y en la tabla 4.

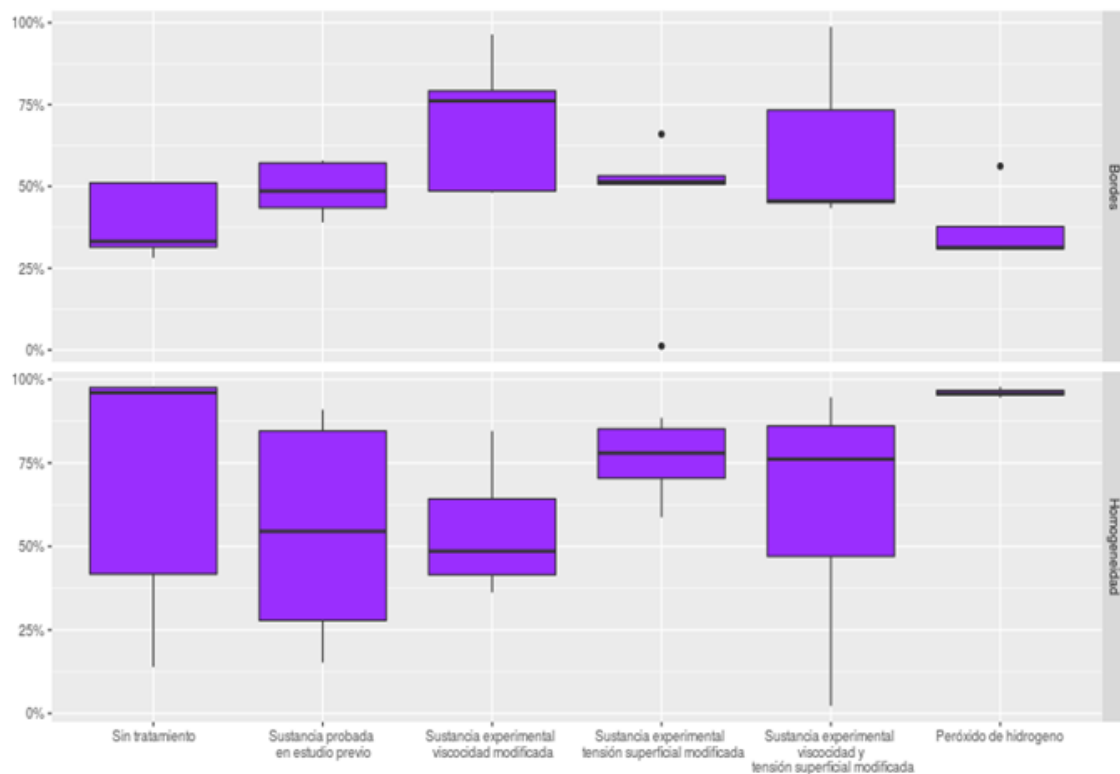


Figura 19. Análisis de regresión beta del ensayo piloto, diagrama de cajas y bigotes para porcentaje de homogeneidad y bordes.

En la figura 19, (mitad superior) se describe el porcentaje de bordes después del tratamiento, en la parte izquierda de la gráfica está la escala donde 0% corresponde a 0

cantidad de manchas. Para el grupo C (sin tratamiento) y el grupo PH (peróxido de hidrógeno), se observan los menores valores del porcentaje de bordes. Los grupos SRBE (Sustancia remineralizante blanqueadora experimental), SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada) y SRBEvt (SRBE con viscosidad y tensión superficial modificadas) tuvieron valores similares de porcentaje de bodes, sin embargo la gráfica muestra mayor consistencia de los datos del grupo SRBEt. El grupo SRBEv (SRBE con viscosidad modificada), tuvo el mayor porcentaje de bordes, es decir que fue el menos homogéneo.

Se observa para el porcentaje de homogeneidad, (mitad inferior de la gráfica) que los grupos más homogéneos en su color fueron el grupo C (sin tratamiento) y el grupo PH (peróxido de hidrógeno). De los grupos de la Sustancia experimental, el grupo con mayor homogeneidad fue el grupo SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada), mostrando datos homogéneos. Los grupos C, SRBE y SRBEvt, por el contrario muestran una marcada dispersión de los datos.

Tratamiento \ Variables	Porcentaje de homogeneidad		Porcentaje de bordes	
	valor t	valor p	valor t	valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	-1.038	0.299	2.224	0.026
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	0.687	0.492	-1.299	0.194
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	2.407	<b>0.016*</b>	-1.339	0.18
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	-0.365	0.715	-0.382	0.702
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	2.166	<b>0.03*</b>	-1.211	0.226
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	-0.099	0.921	1.02	0.308

Tabla 5. Resultados del modelo de regresión Beta para las variables porcentaje de homogeneidad y bordes, ensayo piloto.

En la tabla 5 se observa para el porcentaje de homogeneidad un aumento significativo en los grupos SRBEv (SRBE con viscosidad modificada) ( $P=0.016$ ) y SRBEvt (SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada) ( $p=0.03$ ), con respecto al grupo control. Se compara con ese grupo por no existir mediciones pretratamiento. Para el grupo PH (peróxido de hidrógeno), se observa una disminución en el porcentaje de homogeneidad, pero no es significativa.

Para el porcentaje de bordes, se determinó que no hay diferencias significativas en ninguno de los grupos con respecto al grupo control en cuanto a este porcentaje. Es decir que la homogeneidad de los diferentes grupos, no difiere significativamente del grupo control, lo cual es deseable por ser el grupo control un referente de homogeneidad.

#### 4.1.2. Resultados ensayo definitivo

Los resultados del análisis de regresión beta del porcentaje de homogeneidad y el porcentaje de bordes se muestran en la figura 20 y la tabla 6.

Inicialmente se realizó una comparación entre antes y después de la aplicación de los tratamientos. Para el porcentaje de homogeneidad se encuentra que no hay diferencias significativas entre antes y después de la aplicación de los tratamientos ( $p=0.1527$ ). Para el porcentaje de bordes se observa que existe diferencias significativas entre la aplicación de los tratamientos ( $p=0.0164$ ).

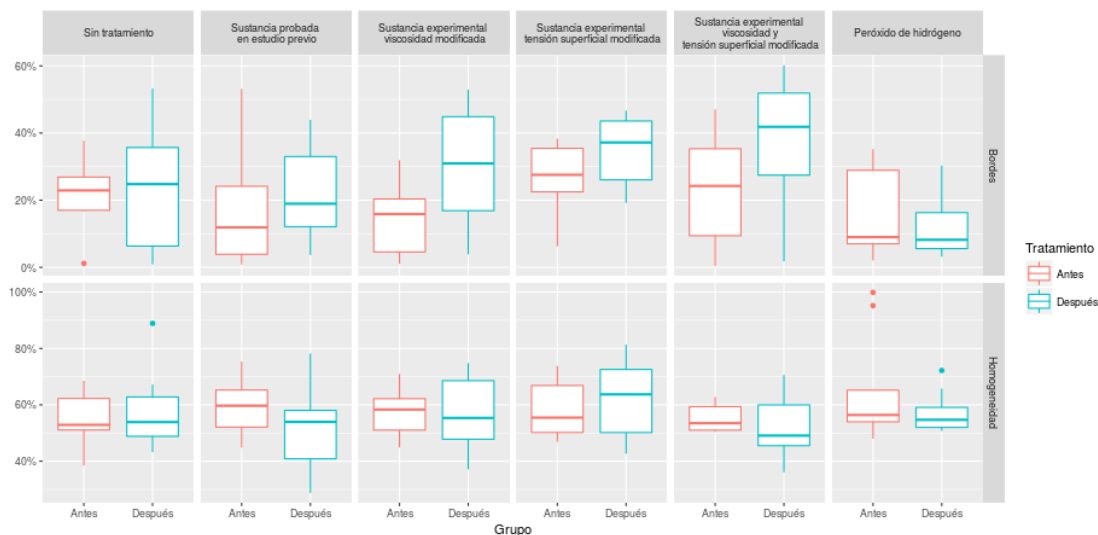


Figura 20. Diagrama de cajas y bigotes para porcentaje de homogeneidad y bordes, antes y después de los tratamientos. Ensayo definitivo.

En la figura 20, se observa el comportamiento del porcentaje de homogeneidad y bordes, pre y postratamiento.

En el caso del porcentaje de bordes (a mayor valor, menos homogeneidad en el color del esmalte), se observa que el grupo C (sin tratamiento) y el grupo PH (peróxido de

hidrógeno), no tuvieron cambios importantes, se mantuvieron los valores pre y postratamiento. Para los grupos de la sustancia experimental, se observó un aumento en el porcentaje de bordes postratamiento, es decir que la cantidad de manchas en el esmalte aumentó. El grupo con mayor cambio en el porcentaje de bordes, fue el grupo SRBEv (SRBE con viscosidad modificada).

Para el porcentaje de homogeneidad (a mayor valor, mayor homogeneidad en el esmalte), se observa que en el grupo C (sin tratamiento) no hubo diferencias en esta variable. Se observa que para el grupo SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada) hubo un aumento en este porcentaje. Los demás grupos SRBE, SRBEv, SRBEvt y PH, disminuyeron su porcentaje de homogeneidad, es decir fueron menos homogéneos luego del tratamiento.

Tratamiento \ Variables	Porcentaje de homogeneidad		Porcentaje de bordes	
	valor t	valor p	valor t	valor p
<b>C : Sin tratamiento</b>	0,55	0,58	-0,37	0,71
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	-1,38	0,17	1,12	0,26
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	-0,2	0,85	2,46	<b>0,01*</b>
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	0,93	0,35	1,73	0,08
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	-0,8	0,42	1,39	0,16
<b>Grupo 6: Peróxido de hidrógeno</b>	-1,83	0,07	-0,28	0,78

Tabla 6. Resultados para el modelo de regresión Beta de las variables homogeneidad y bordes, ensayo definitivo.

En la tabla 6 se observa el análisis de regresión beta dentro de cada uno de los grupos, antes y después de tratamiento. Para el porcentaje de homogeneidad, se observa que no hay diferencias significativas a un nivel de significancia del 5%, para ninguno de los grupos, sin embargo, las muestras del grupo PH (peróxido de hidrógeno), presentaron una reducción del 7% en el porcentaje de homogeneidad, promedio significativo a un nivel de significancia del 10%. Se observa en el valor t (coeficiente estandarizado), que el grupo SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada), fue el único grupo que tuvo un aumento del valor de homogeneidad,



Para el porcentaje de bordes se observa una disminución no significativa para los grupos C (sin tratamiento) y PH (peróxido de hidrógeno). Para los grupos SRBE, SRBEv, SRBEt hay aumento del porcentaje de bordes, lo cual indica una disminución de homogeneidad del color, siendo esta diferencia significativa solamente para el SRBEv (SRBE con viscosidad modificada).

## **4.2. Segundo objetivo específico**

Se modificaron propiedades a la sustancia remineralizante blanqueadora experimental tales como la tensión superficial y la viscosidad, por medio de la aplicación de lauril sulfato de sodio y polivinil alcohol respectivamente.

### **4.2.1. Resultados medición tensión superficial de las sustancias experimentales**

Se midió la tensión superficial de la fase líquida de las diferentes sustancias experimentales probadas en el estudio, debido a que el tensiómetro usado mide únicamente líquidos. Por ende se midió la solución activadora de la Sustancia Remineralizante Blanqueadora Experimental (SRBE), Polivinil alcohol (SRBEv), Lauril Sulfato de Sodio (SRBEt), Mezcla Polivinil Alcohol y Lauril Sulfato de Sodio (SRBEvt) y Agua como referente.

Para calibrar el tensiómetro, se midió la tensión superficial de 6 compuestos de metanol y agua, en diferentes concentraciones de estos componentes. Ver figura 21.

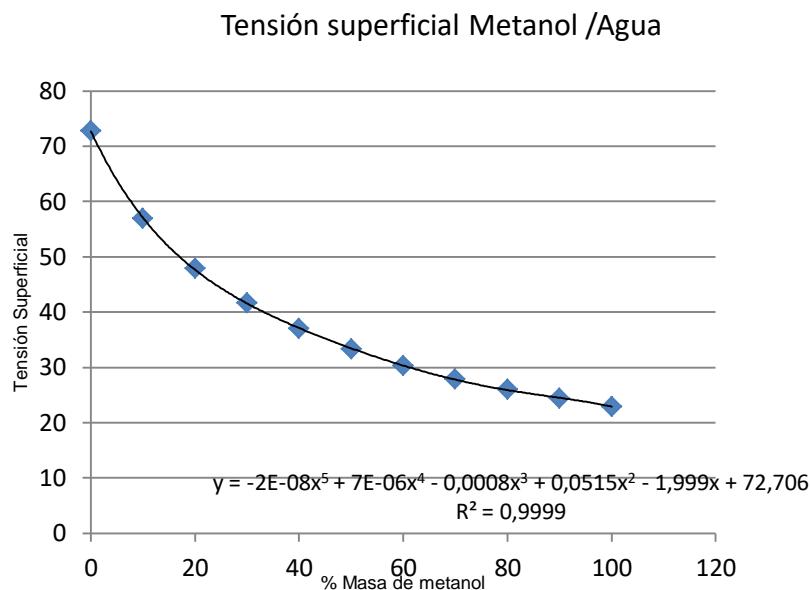


Figura 21. Tensión superficial de metanol/agua

En la gráfica se observa la ecuación de la pendiente obtenida, con un valor de coeficiente  $R^2$  alto, lo que indica que las dos variables se correlacionan altamente. Adicionalmente comparado con otros alcoholes, la gráfica del metanol, es la más cercana a la linealidad.

La siguiente figura 22 relaciona la tensión superficial de metanol/agua a seis diferentes concentraciones reportada en la literatura con la que se midió en este estudio con las soluciones de calibración preparadas.

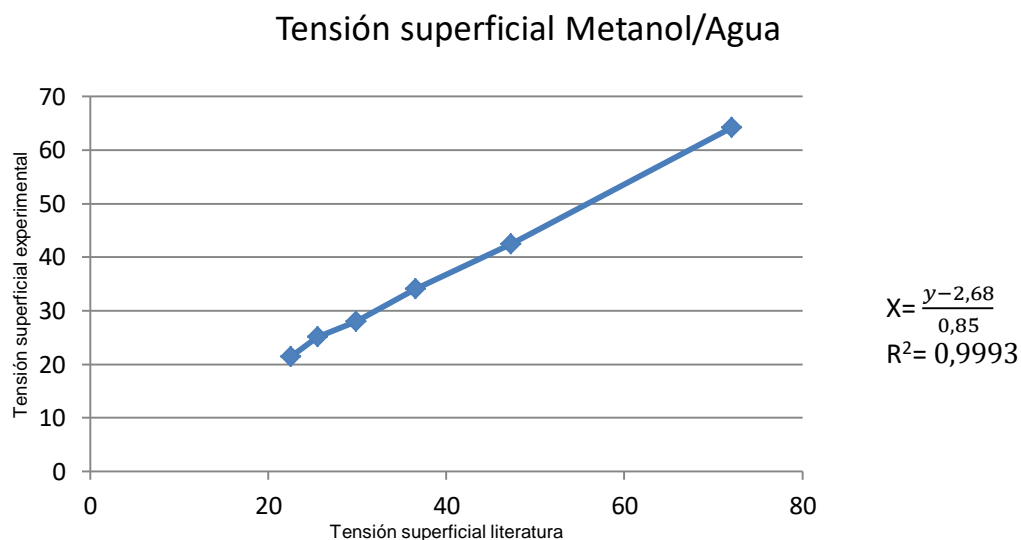


Figura 22. Tensión superficial de metanol/agua experimental vs literatura

Se observa que la gráfica es lineal y el coeficiente  $R^2$  es alto, es decir que la correlación entre las variables es alta. Por ende se calculó la ecuación de esta pendiente para aplicarla a los valores de tensión superficial relativos que se obtuvieron de las sustancias experimentales y agua, y de ese modo se obtuvieron valores reales de tensión superficial, ver tabla 7. La ecuación es  $x = \frac{y-2,68}{0,85}$  donde x es el valor de tensión superficial real, y es la tensión superficial relativa, 2,68 es el punto de corte de la gráfica y 0,85 es la pendiente de la gráfica.

Compuestos medidos	Tensión superficial (N/m)
Agua	72,38
Solución activadora de la SRBE	59,71
Polivinil alcohol (viscosante)	43,44
Lauril sulfato de sodio (tensoactivo)	30,38
Mezcla lauril sulfato de sodio y polivinil alcohol	37,82

Tabla 7. Valores de tensión superficial reales de sustancias experimentales

Se observa en estos resultados que al agregar el lauril sulfato de sodio, a la sustancia remineralizante blanqueadora experimental se logró reducir la tensión superficial de la misma de 59, 71 N/m a 30,38 N/m.

Con la adición de polivinil alcohol se redujo la tensión superficial a 43, 44 N/m. Aunque este polímero se adicionó como viscosante, es un humectante y se comporta como tensoactivo moderado.

La tensión superficial de la mezcla lauril sulfato de sodio y polivinil alcohol fue de 37,82 N/m, una cifra intermedia entre las tensiones de cada compuesto por separado.

#### 4.2.2. Resultados medición de viscosidad de sustancias experimentales

Se midió la viscosidad de las sustancias experimentales modificadas, sustancia blanqueadora experimental con viscosidad modificada (SRBEv), sustancia blanqueadora experimental con tensión superficial modificada (SRBEt) y sustancia blanqueadora

experimental con viscosidad y tensión superficial modificadas (SRBEvt), así como también se midió la viscosidad del peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office (PH). Se obtuvieron los siguientes resultados:

Grupo SRBEv: Sustancia blanqueadora experimental con viscosidad modificada

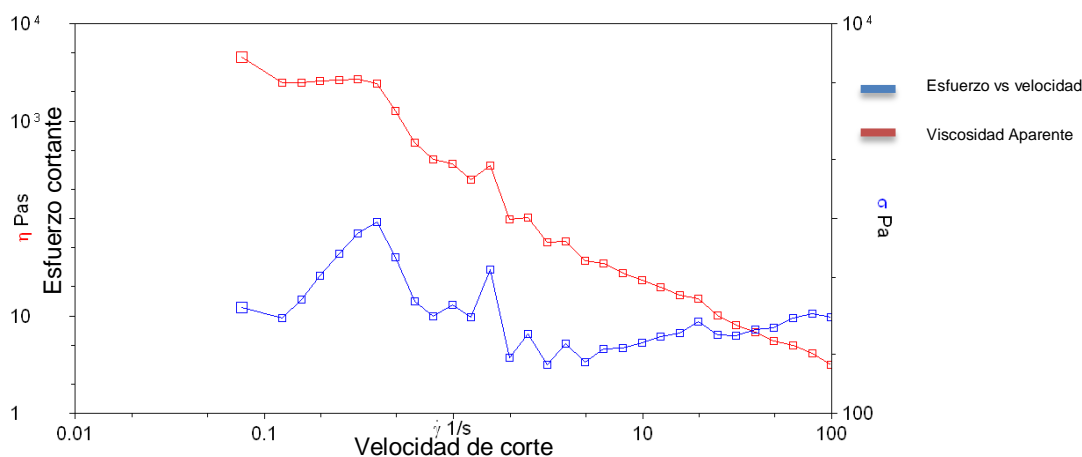


Figura 23. Viscosimetría SRBEv

En la figura 23 se observa que la viscosidad para esta sustancia va disminuyendo con el aumento de la velocidad aplicada por el equipo. Sin embargo, se observan en ambas líneas unos picos que representan momentos donde el equipo requiere un mayor esfuerzo para que la sustancia fluya. Esto se debe a la presencia de aglutinaciones o grumos, porque el calcio de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental es muy reactivo e interactúa químicamente con el viscosante. También se encuentra que la adición del polivinil alcohol si aumenta la oposición a fluir de la SRBE, lo que corrobora que si se aumenta la viscosidad.

## Grupo SRBEt: Sustancia blanqueadora experimental con tensión superficial modificada

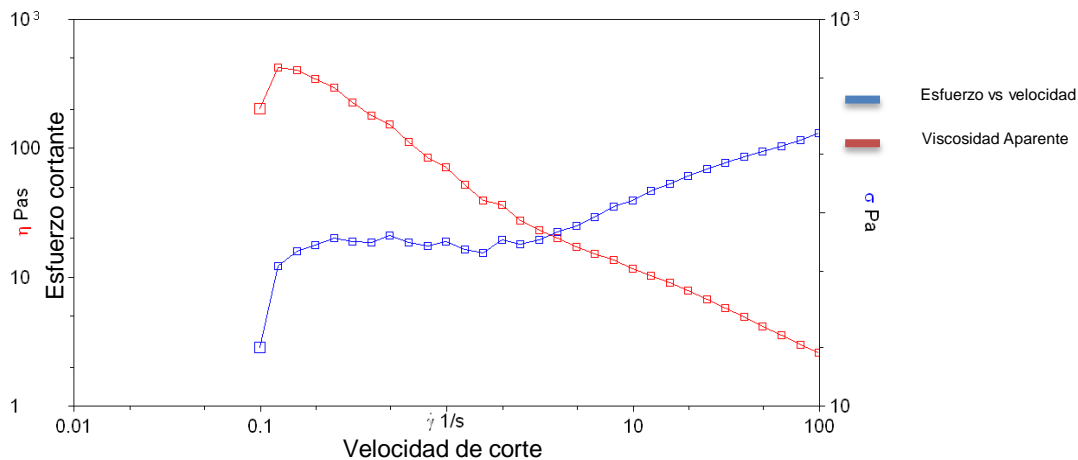


Figura 24. Viscosimetría SRBEt.

En la figura 24 se observa el comportamiento reológico de la sustancia blanqueadora experimental con tensión superficial modificada, donde muestra que la viscosidad disminuye en razón al aumento del esfuerzo y la velocidad. Se observa que ante la aplicación del esfuerzo esta sustancia fluyó de manera continua, sin ofrecer resistencia.

## Grupo SRBEvt: Sustancia blanqueadora experimental con viscosidad y tensión superficial modificadas

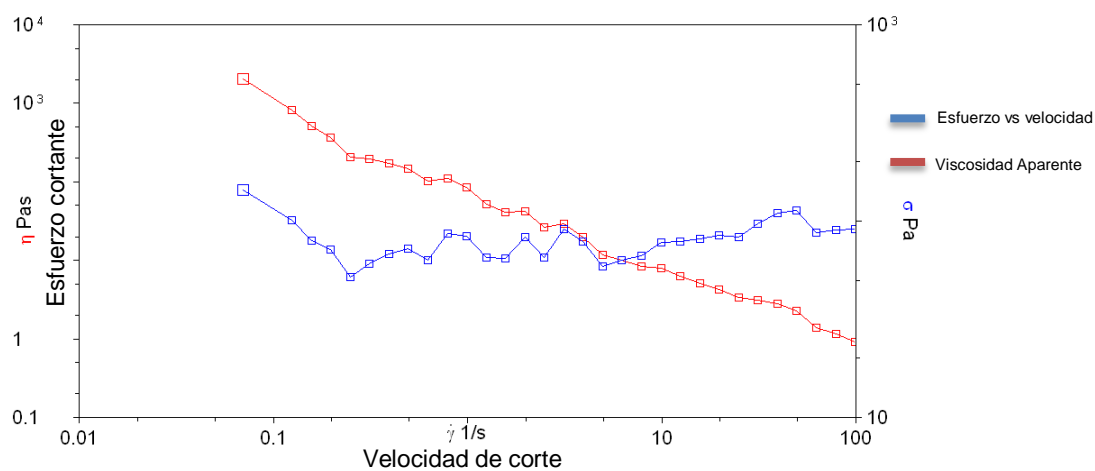


Figura 25. Viscosimetría SRBEvt

En la figura 25 se observa el comportamiento de la Sustancia blanqueadora experimental con viscosidad y tensión superficial modificadas. Se observa que ante la aplicación del

esfuerzo esta sustancia fluyó de manera continua. Sin embargo se encuentra que en algunos momentos la sustancia ofreció resistencia a fluir, por ende se ven picos de aumento del esfuerzo. Lo anterior es debido a que esta sustancia contiene polivinil alcohol, agente viscosante.

Grupo PH: Peróxido de hidrógeno al 35% Pola Office®

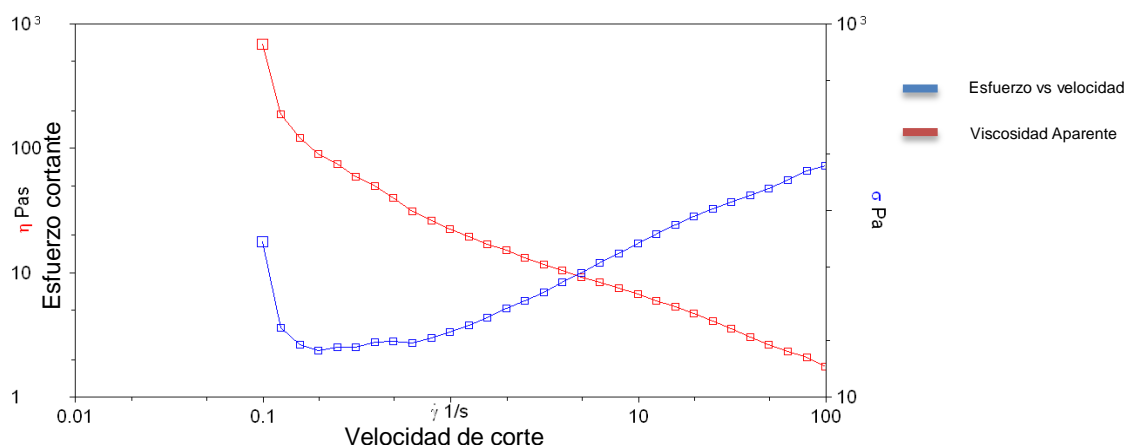


Figura 26. Viscosimetría del Peróxido de Hidrógeno Pola Office®

En la figura 26 se observa el comportamiento del Pola Office®, se observa que la viscosidad disminuye, en razón al aumento del esfuerzo y la velocidad. Ante la aplicación del esfuerzo este material fluyó de manera progresiva, sin ofrecer resistencia en ningún punto.

## 4.3. Cuarto objetivo específico

### 4.3.1. Resultados ensayo piloto:

#### Análisis Variables $L^*$ , $a^*$ y $b^*$

Se realizó un modelo de medidas repetidas a dos vías de clasificación donde se tienen en cuenta las variables  $L$ ,  $a^*$  y  $b^*$  antes y después del tratamiento. Para la variable  $L^*$  se encuentran diferencias significativas ( $p=0,0204$ ). Para las variables  $a^*$  y  $b$  se encuentra un cambio significativo también ( $p= 0$ ). Luego se realizó un modelo de regresión lineal simple para los especímenes dentro de cada grupo (ver figura 28 y tabla 7).

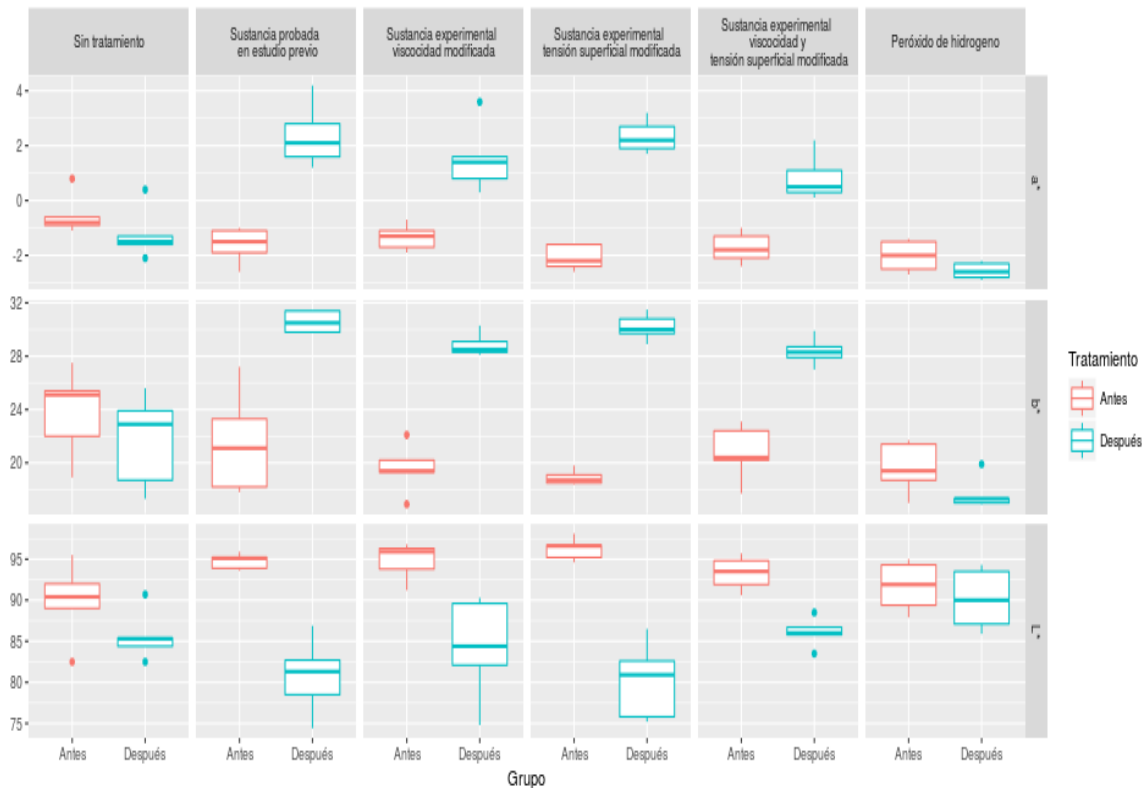


Figura 27. Diagrama de cajas y bigotes del análisis de regresión lineal simple del ensayo piloto. para  $a^*$ ,  $b^*$  y  $L^*$  antes y después del tratamiento.

En la figura 27. se observa un resumen de los resultados para  $a^*$  y  $b^*$ .  $L^*$ , pre y postratamiento. Para la variable  $a^*$  en el grupo control y en grupo de peróxido, los datos son homogéneos (poca dispersión) y hay una disminución después del tratamiento. En los grupos de la sustancia experimental hay un aumento de variable.

Con respecto a la variable  $b^*$  existe una disminución para el grupo control y el grupo de peróxido de hidrógeno y aumento de esta para los grupos de la sustancia experimental, teniendo los mayores valores el grupo SRBE (Sustancia remineralizante blanqueadora experimental) y el grupo SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada).

Para la variable  $L^*$  se observa, que en los seis grupos hubo un disminución, siendo mayor para los cuatro grupos experimentales.

Variables Tratamiento	L*		a*		b*	
	valor t	valor p	valor t	valor p	valor t	Valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	-1.663	0.135	-1.285	0.235	-0.963	0.364
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	-6.554	<b>0*</b>	6.632	<b>0*</b>	5.103	<b>0.001*</b>
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	-3.514	<b>0.008*</b>	4.779	<b>0.001*</b>	10.013	<b>0*</b>
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	-7.251	<b>0*</b>	12.922	<b>0*</b>	21.855	<b>0*</b>
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	-5.852	<b>0*</b>	5.6	<b>0.001*</b>	7.162	<b>0*</b>
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	-0.713	0.496	-1.841	0.103	-1.889	0.096

Tabla 8. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo piloto de dientes bovinos. t (coeficiente estandarizado que corresponde a la magnitud del cambio y su dirección), p (nivel de significancia), para las variables L\*, a\* y b\*.

En la tabla 8 se observa que para la variable L\*, se evidencian diferencias significativas entre los grupos de la sustancia experimental, indicando que existe disminución en L\* para los especímenes después de haber aplicado el tratamiento, lo cual indica que se disminuyó la luminosidad. Con respecto al grupo tratado con peróxido de hidrógeno se observó una disminución de la luminosidad pero no es significativa.

Para la variable a\*, se encuentran diferencias significativas para los grupos de la sustancia experimental, presentando un aumento en el valor lo que indica una tendencia al color rojo. Para el grupo de peróxido de hidrógeno se encuentra una disminución del valor no significativa lo que representa una tendencia hacia los verdes.

Para la variable b\*, se encuentran diferencias significativas para los grupos de la sustancia experimental, presentando un aumento en su valor, lo que indica una tendencia hacia el amarillo. Para el grupo de peróxido se encuentra una disminución del valor no significativa lo que indica una tendencia hacia tonos menos amarillos.



### 4.3.2. Resultados ensayo definitivo

#### Análisis variables $L^*$ , $a^*$ y $b^*$

Se realizó un modelo de medidas repetidas a dos vías de clasificación donde se tienen en cuenta las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  antes y después del tratamiento. Para la variable  $L^*$  se encuentran diferencias significativas ( $p=0.023$ ), para la variable  $a^*$  se observa un cambio significativo ( $p=0.000$ ) y para variable  $b^*$  se encuentran diferencias ( $p=0.0047$ ). Luego se realizó un modelo de regresión lineal simple para observar las diferencias dentro de cada grupo (ver figura 28 y tabla 8).

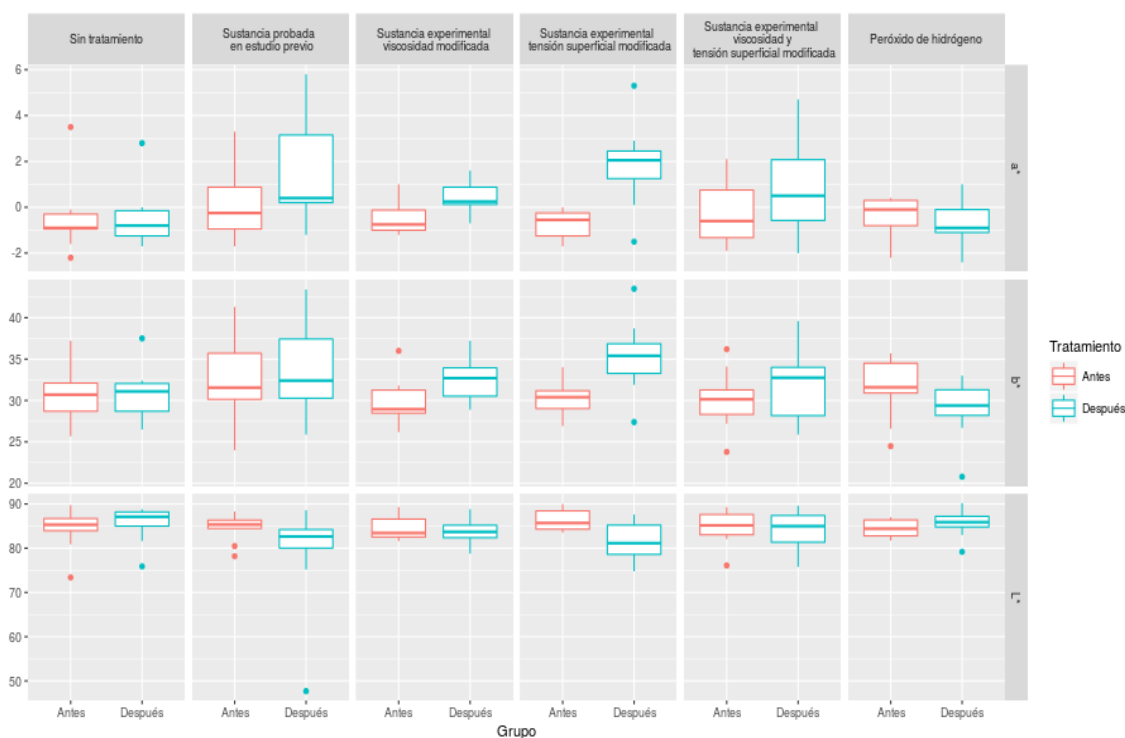


Figura 28. Análisis de regresión lineal del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  pre y postratamiento.

En la figura 28 se observa el diagrama de cajas y bigotes de los resultados para  $a^*$  y  $b^*$ .  $L^*$ , pre y postratamiento. Para la variable  $a^*$ , en el grupo C (sin tratamiento) no se observan cambios entre antes y después. En el grupo PH (peróxido de hidrógeno) hay una disminución después del tratamiento. En los grupos de la sustancia experimental, hay un aumento de variable, siendo mayor para el grupo SRBEt (SRBE con tensión

superficial modificada), teniendo este grupo datos homogéneos. Para los grupos SRBE y SRBE vt se evidencia mayor dispersión de los datos

Con respecto a la variable  $b^*$ , para el grupo C (sin tratamiento) no se observan cambios entre antes y después. Existe una disminución para el grupo PH (peróxido de hidrógeno) y aumento para los grupos de la sustancia experimental, teniendo los mayores valores el grupo SRBE t (SRBE con tensión superficial modificada). Se observa dispersión marcada de los datos de los grupos SRBE y SRBE vt.

En la variable  $L^*$ , se encontró una leve disminución para los grupos de la sustancia experimental, para los grupos C (sin tratamiento) y PH (peróxido de hidrógeno) hubo un leve aumento de  $L^*$ . Los datos de todos los grupos fueron homogéneos.

<div>Variables</div> <div>Tratamiento</div>	$L^*$		$a^*$		$b^*$	
	valor t	valor p	valor t	valor p	valor t	Valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	0,7	0,49	-0,05	0,96	0,08	0,94
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	-1,38	0,18	1,69	0,11	0,59	0,56
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	-0,53	0,6	2,91	<b>0,01*</b>	2,29	<b>0,04*</b>
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	-3,02	<b>0,01*</b>	4,3	<b>0*</b>	3,29	<b>0*</b>
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	-0,39	0,7	1,4	0,18	1,15	0,27
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	0,77	0,46	-0,62	0,54	-1,39	0,18

Tabla 9. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos. t (coeficiente estandarizado que corresponde a la magnitud del cambio y su dirección), p (nivel de significancia), para las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

En la tabla 9 se observa que para la variable  $L^*$ , en el grupo C (sin tratamiento) y el grupo PH (peróxido de hidrógeno) hay un aumento de la luminosidad, pero no es significativo. Para los grupos de la sustancia experimental hubo una disminución, siendo el más significativo el grupo SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada).

Para la variable  $a^*$ , se encuentran aumento en los grupos de la sustancia experimental, lo que indica una tendencia al color rojo, sin embargo el aumento solo fue significativo para los grupos SRBEv (sustancia experimental con viscosidad modificada) ( $p=0.01$ ) y SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada) ( $p=0$ ). Para el grupo PH (peróxido de hidrógeno) se encuentra una disminución del valor de  $a^*$  no significativa, lo que representa una tendencia hacia los verdes.

Para la variable  $b^*$ , se encuentra aumento en los grupos de la sustancia experimental, lo que indica una tendencia al color amarillo, sin embargo el aumento solo fue significativo para los grupos SRBEv (sustancia experimental con viscosidad modificada) ( $p=0,04$ ) y SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada) ( $p=0$ ). Para el grupo PH (peróxido de hidrógeno) se encuentra una disminución del valor de  $b^*$  no significativa, lo que representa una tendencia hacia tonos menos amarillos.

### Análisis Variables Delta E, CIEDE2000 y WID

Se realizó un modelo de regresión lineal simple, en el cual se evaluaron las variables Delta E y CIEDE2000 entre grupos y la variable WID antes y después de los tratamientos y entre grupos.

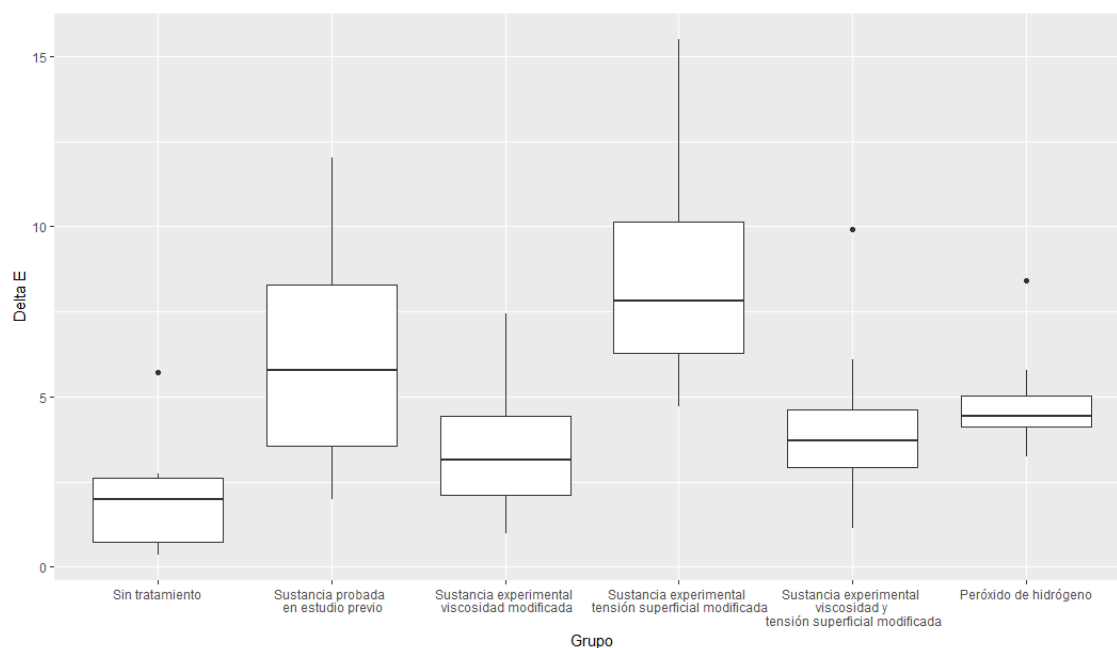


Figura 29. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para Delta E.

Para todos los grupos se observa que hubo un cambio de color en la segunda medición (valores diferentes a cero). Siendo según la gráfica más notorio en los grupos SRBE (Sustancia remineralizante blanqueadora experimental) y SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada).

Grupo	Error estándar	valor t	valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	0.797	2.396	<b>0.020*</b>
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	1.155	3.800	<b>0.000*</b>
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	1.155	1.349	0.183
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	1.155	6.028	<b>0.000*</b>
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	1.155	1.920	0.060
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	1.188	2.460	<b>0.017*</b>

Tabla 10. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos. t (coeficiente estandarizado que corresponde a la magnitud del cambio y su dirección), p (nivel de significancia), para la variable Delta E.

En la tabla 10 se evidencia que hubo un cambio de color, en términos de Delta E, para todos los grupos. El cambio de color fue estadísticamente significativo para todos los grupos, excepto el grupo SRBEv (sustancia experimental con viscosidad modificada) y SRBEvt (sustancia experimental con viscosidad y tensión superficial modificadas).

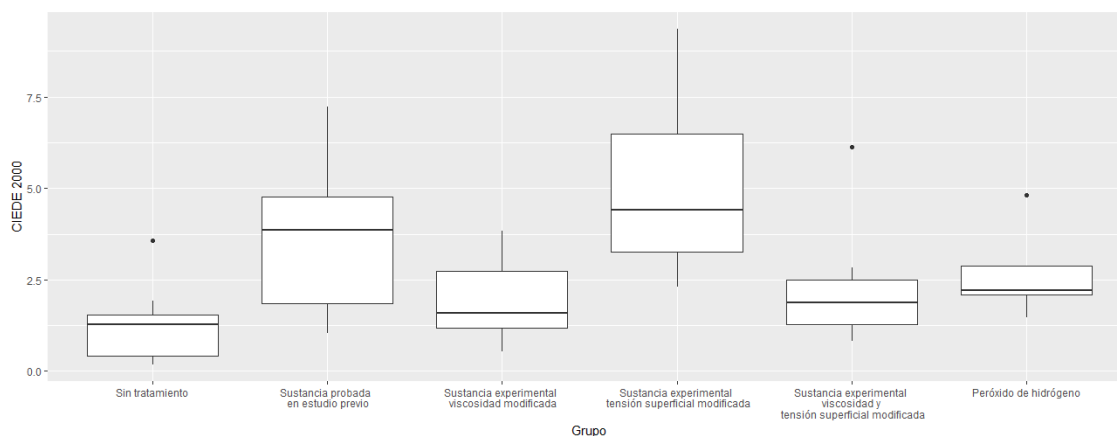


Figura 30. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para CIEDE2000.

Para todos los grupos se observa que hubo un cambio de color en términos de la variable CIEDE2000 en la segunda medición. El grupo C (sin tratamiento) mostró la menor variación y los grupos SRBE (Sustancia remineralizante blanqueadora experimental) y

SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada) mostraron el mayor cambio de color.

Grupo	Error estándar	valor t	valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	0.476	2.497	0.06
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	0.689	3.526	<b>0.001*</b>
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	0.689	0.975	0.334
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	0.689	5.523	<b>0.000*</b>
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	0.689	1.446	0.154
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	0.709	1.852	0.070

Tabla 11. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos. t (coeficiente estandarizado que corresponde a la magnitud del cambio y su dirección), p (nivel de significancia), para la variable CIEDE 2000.

En la tabla 11 se evidencia que hubo un cambio de color, en términos de CIEDE2000, para todos los grupos. Sin embargo el cambio de color solo fue estadísticamente significativo para los grupos SRBE (Sustancia remineralizante blanqueadora experimental) y SRBEt (sustancia experimental con tensión superficial modificada).

El promedio de la diferencia CIEDE2000 para cada grupo se observa en la tabla 12.

GRUPO	CIEDE 2000	PT (0.34–1.28)*	AT (1.23–2.37)*
<b>C</b>	1,19	Dentro del umbral	Por debajo del umbral
<b>SRBE</b>	3,62	Por encima de umbral	Por encima de umbral
<b>SRBEv</b>	1,86	Por encima de umbral	Dentro del umbral
<b>SRBEt</b>	4,99	Por encima de umbral	Por encima de umbral
<b>SRBEvt</b>	2,18	Por encima de umbral	Dentro del umbral
<b>PH</b>	2,50	Por encima de umbral	Por encima de umbral

Tabla 12. Valores de CIEDE 2000 por grupos y umbrales de perceptibilidad (PT) y aceptabilidad (AT). \*Umbrales PT y AT CIEDE2000 50:50% para odontología (30).

Se observa que todos los grupos, excepto el grupo C, tuvieron una diferencia de color CIEDE2000 por encima del umbral de perceptibilidad (PT), esto quiere decir que el cambio de color postratamiento puede ser detectado por el ojo humano.

El resultado CIEDE2000 de los grupos SRBEv, SRBEvt estuvieron por debajo del umbral de aceptabilidad, quiere decir que el cambio postratamiento es aceptado al ojo humano,

por ende no representaría clínicamente un cambio de color relevante. Los grupos SRBE, SRBEt y PH tuvieron un valor de CIEDE 2000 por encima del umbral de aceptabilidad, quiere decir que clínicamente el cambio de color no es aceptable para el ojo humano, por ende es un cambio notorio y relevante para un observador.

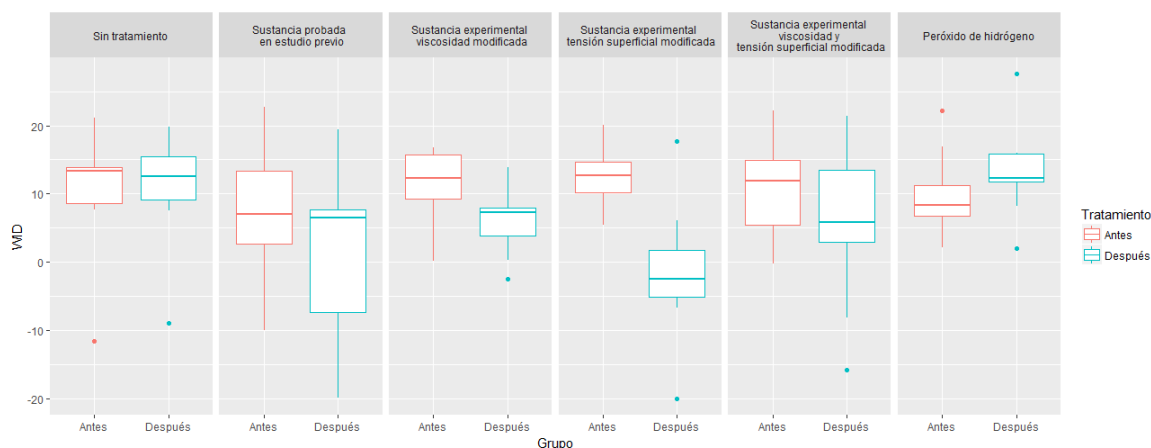


Figura 31. Análisis de regresión lineal simple del ensayo definitivo, diagrama de cajas y bigotes para el índice de blanqueamiento WID pre y postratamiento.

Para el índice de blanqueamiento WID se observa que el grupo C (sin tratamiento) no presenta cambios notorios. Los grupos SRBE, SRBEv, SRBEt y SRBEvt mostraron una disminución en el índice de blanqueamiento WID postratamiento. El grupo PH (peróxido de hidrógeno) por el contrario mostró aumento en el índice WID.

Grupo	Error estándar	valor t	valor p
<b>C: Sin tratamiento</b>	3.461	0.163	0.872
<b>SRBE: Sustancia remineralizante blanqueadora experimental</b>	4.886	-1.335	0.198
<b>SRBEv: SRBE con viscosidad modificada</b>	2.188	-2.547	<b>0.02*</b>
<b>SRBEt: SRBE con tensión superficial modificada</b>	3.34	-4.136	<b>0.001*</b>
<b>SRBEvt: SRBE con viscosidad y tensión superficial modificada</b>	4.137	-1.262	0.223
<b>PH: Peróxido de hidrógeno</b>	3.15	1.213	0.243

Tabla 13. Resultados del análisis de regresión lineal simple para ensayo definitivo en dientes humanos. t (coeficiente estandarizado que corresponde a la magnitud del cambio y su dirección), p (nivel de significancia), para la variable WID pre y postratamiento

En la tabla 13 se observa un aumento del índice WID postratamiento (valor de t positivo) para los grupos C (Sin tratamiento) y PH (Peróxido de Hidrógeno), sin embargo ese aumento no es estadísticamente significativo. Los grupos SRBE, SRBEv, SRBEt y

SRBEvt mostraron una disminución en el índice de blanqueamiento WID postratamiento (valor de t negativo), sin embargo solo fue estadísticamente significativa para los grupos SRBEv y SRBEt.

#### **4.4. Quinto objetivo específico**

En el mencionado estudio anterior (tesis previa) (64), para cuantificar el cambio de color, se evaluaron las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ , por medio de espectrofotometría.

Respecto a la variable  $L^*$ , mediante un análisis ANOVA, se determinó que los especímenes tratados con esta sustancia experimental (SRBE probada en tesis previa, sin modificaciones), presentaron un aumento en su valor, representado en el incremento de la luminosidad. El cambio fue estadísticamente significativo, con una valor de  $P=0.0080$ .

En el presente estudio se encontró por el contrario, una disminución de la variable  $L^*$  en todos los grupos de la sustancia experimental, la cual fue estadísticamente significativa,  $p=0.023$ .

En cuanto a la variable  $a^*$ , en el estudio previo se observó que todos los grupos de la sustancia experimental mostraron un aumento estadísticamente significativo, respecto a este parámetro,  $p=0.0108$ . Para el presente estudio se encontró que todos los grupos experimentales (2 al 5), tuvieron aumento de la variable  $a^*$  con el tratamiento. Se observó el mayor cambio para en el grupo tratado con la Sustancia Experimental con tensión superficial modificada. Es decir que en este parámetro hay coincidencia entre ambos estudios.

Finalmente para la variable  $b^*$ , en el estudio anterior se encontró que todos los grupos de la sustancia experimental tuvieron un aumento significativo de esta,  $p=0.0061$ .

En el presente estudio se evidenció la existencia de diferencias significativas entre antes y después del tratamiento, en los grupos tratados con la sustancia experimental ( $p=0.0047$ ). Es decir que en el comportamiento de la variable  $b^*$ , coincidieron ambos estudios.

## 5. Discusión

Para responder la pregunta de investigación de la presente tesis, ¿cómo influye la viscosidad y la tensión superficial de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental (SRBE) en el color y su homogeneidad en el esmalte dental tratado?, se realizó un ensayo piloto en dientes bovinos y según sus resultados determinar los parámetros para el ensayo definitivo. Se optó por trabajar con dientes bovinos por su fácil obtención, mayor área de trabajo y posibilidad de utilizar dientes incisivos, que presentan caras vestibulares planas, tales como los dientes anteriores humanos, que son los más comúnmente blanqueados.

Se han reportado en la literatura las ventajas de utilizar dientes bovinos en investigación odontológica, como sustitutos de dientes humanos. Al igual que estos últimos, los incisivos bovinos presentan una corona y raíz y están conformados por esmalte, dentina, cemento y pulpa, cuya histología tiene la misma disposición. El color de los dientes bovinos es similar al de los dientes humanos (69), pero varían en su textura, ya que los incisivos bovinos presentan en su superficie vestibular estrías verticales. Adicionalmente por su mayor tamaño son más fáciles de manipular, son fáciles de obtener y no presentan caries, ya que por el tipo de dieta, la cantidad de saliva y la cantidad de movimientos efectuados por la lengua, estos animales presentan muy baja incidencia de esta enfermedad (69).

Durante la ejecución del ensayo piloto, se estableció la metodología de toma de fotografías empleadas para el análisis de imágenes y se desarrolló un programa para realizarlo, con un estudiante de doctorado del Departamento de Ingeniería de Sistemas de la Universidad Nacional de Colombia. También se estableció que se requería realizar un registro fotográfico antes del tratamiento para el ensayo definitivo, ya que en el piloto solo se obtuvieron fotos después del tratamiento.

Los resultados del ensayo piloto y el ensayo definitivo y los resultados de medición de la tensión superficial y viscosidad las sustancias experimentales, permitieron responder a los cinco objetivos específicos del presente trabajo.

En uno de los objetivos se planteó cuantificar el cambio de color en el esmalte dental tratado con la SRBE y las SRBE modificadas (cuarto objetivo). Por medio de las mediciones espectrofotométricas que se realizaron en el ensayo piloto y definitivo, se



determinó el comportamiento de las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del color, para responder a este objetivo.

En el ensayo piloto, para el grupo sin tratamiento, hubo variación en las variables  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  entre la primera y segunda medición del color, lo que indica que el medio de almacenamiento, produjo cambios en el color, lo cual podría generar un sesgo en los resultados. Por esta razón, para el ensayo definitivo se realizó la toma de color pretratamiento, la aplicación de las sustancias y peróxido de hidrógeno y la medición de color postratamiento en un lapso de una semana, para evitar que los resultados se vieran influenciados por factores distintos a los tratamientos aplicados.

En el ensayo definitivo, para la variable  $L^*$  (luminosidad), se encontró que en todos los grupos de la SRBE, hubo disminución, sin embargo esa disminución solo fue significativa para el grupo SRBEt (ver tabla 9). Con la aplicación de las sustancias experimentales, visualmente se notó un cambio de color en los dientes tratados, hacia tonos más claros o “más blancos” (figura 18, 7-8), se esperaría por esta razón, un aumento en los valores de luminosidad y no una disminución. Hubo un leve aumento de la variable  $L^*$  en el grupo PH (peróxido de hidrógeno), sin embargo ese cambio no fue significativo.

Existen estudios de sustancias blanqueadoras remineralizantes reportados en la literatura, en los cuales a pesar de encontrar tonos más claros de los dientes, se produce un descenso de la luminosidad. Niwa et al. en el 2001 probaron en pacientes una crema dental con hidroxiapatita y evaluaron las variables brillo y “blancura” usando un test de Kobayashi, emplearon un colorímetro para medir los cambios. Como resultado reportan un incremento de la “blancura” y brillo, sin embargo reportan que el brillo disminuyó en algunos pacientes pasado 4 meses de uso (62).

En el estudio de González et al. del 2015, en el que se evaluó la misma SRBE probada en la presente tesis, encontraron in vitro que la sustancia remineralizante blanqueadora experimental disminuye la variable  $L^*$  del color del esmalte tratado (18).

Una hipótesis es que este tipo de sustancias remineralizantes generan aposición de partículas en la superficie del esmalte y la presencia de esas partículas produce una reflexión diferente de la luz, lo cual hace la superficie menos brillante y en consecuencia disminuye la luminosidad. Algunos artículos lo han mencionado, Dabanoblu et al. en el 2009, evaluaron in vitro el efecto de la nano-hidroxiapatita, nano-hidroxiapatita cristalina, fosfato tricálcico en polvo y nano-hidroxiapatita integrada a una película polimérica, sobre el color dental. En este estudio se realizaron las mediciones del color con un espectrofotómetro Vita Easy Shade, pretratamiento y postratamiento cada 24 horas por

4 días y se observaron con microscopia electrónica de barrido. Se encontró que todas las formas probadas de hidroxiapatita produjeron un cambio estadísticamente significativo en el parámetro delta E y mencionan que se formó una capa delgada de hidroxiapatita que se adhirió a la hidroxiapatita natural del diente, por su proximidad química (63).

Otro estudio, Jin et al. en el 2013, evaluó el efecto in vitro en el color dental de una suspensión de zinc-carboapatita y una suspensión de fosfato tricálcico. Como parámetro del cambio de color se empleó el delta E, medido con un espectrofotómetro Vita Easy Shade pretratamiento y cada 24 horas luego de la aplicación de las sustancias durante 4 días. Encontraron que la suspensión de fosfato tricálcico al 10%, produjo el mayor cambio en delta E. Mencionan los autores la formación de una capa superficial mineralizada en el esmalte por la aposición de los fosfatos de calcio, que favoreció la reflexión difusa de la luz lo cual produce un aspecto “blanco” (15).

Para la variable  $a^*$  (eje verde- rojo), se encuentra que todos los grupos de las SRBE, presentaron aumento de la misma con el tratamiento, es decir una tendencia hacia tonos menos verdes, sin embargo el aumento solo fue significativo para los grupos SRBEv y SRBEt. El grupo C se mantuvo sin cambios y para el grupo PH hubo disminución no significativa de la variable  $a^*$ .

Se presenta un comportamiento similar para la variable  $b^*$  (eje amarillo azul), es decir una tendencia en todos los grupos de la SRBE a valores positivos, es decir hacia tonos menos azules, siendo significativo solamente para los grupos SRBEv y SRBEt. El grupo C se mantuvo sin cambios y para el grupo PH hubo disminución no significativa de la variable  $b^*$ .

Adicional al análisis por coordenadas CIELAB y al delta E, se evaluó el cambio de color por medio de la ecuación CIEDE 2000 y el índice de blanqueamiento WID. Se empleó el CIEDE2000 además del delta E, ya que hace una evaluación tridimensional y corrige las diferencias entre el color medido de manera visual e instrumental (28,29,70). Sin embargo las diferencias de color obtenidas en delta E y CIEDE 2000 indican que hay un cambio de color, pero no indican la dirección del cambio. Por esta razón se compararon los resultados que se obtuvieron con los umbrales de perceptibilidad (PT) y aceptabilidad (AT), el PT hace referencia al valor mínimo de diferencia de color que puede ser detectado por el sistema visual humano, mientras que el AT hace referencia al valor

mínimo de diferencia de color que aunque es percibido, se considera clínicamente aceptable(30). También se empleó en índice de blanqueamiento WID, con el fin de evaluar si hubo blanqueamiento con las sustancias probadas. Se utilizó el índice WID desarrollado por Pérez et al. en el 2016, ya que es un índice diseñado especialmente para odontología y basado en el sistema CIELAB, este se correlaciona mejor con evaluaciones visuales y tiene mejores resultados en términos de uniformidad y aplicabilidad comparado con otros índices de blanqueamiento. El estudio de Pérez mostró que el WID tuvo un mejor comportamiento que todos los índices de blanqueamiento existentes incluido el WIO (65) (71).

En cuanto a los resultados de la diferencia de color delta E, se encontró que hubo cambio de color para todos los grupos postratamiento y ese cambio de color fue estadísticamente significativo para los grupos C, SRBE, SRBEt y PH (ver tabla 10). Estos resultados indican que hubo modificación de color, pero no describen dirección del cambio.

En cuanto a la diferencia de color CIEDE2000, se evidenció que hubo un cambio de color para todos los grupos, sin embargo el cambio de color solo fue estadísticamente significativo para los grupos SRBE y SRBEt (ver tabla 11). Al evaluar los resultados obtenidos de CIEDE 2000 con los umbrales PT y AT, se encontró que el grupo C estuvo por debajo de estos dos umbrales, lo cual es esperable ya que es el grupo sin tratamiento. Todos los demás grupos SRBE, SRBEv, SRBEt, SRBEvt y PH, tuvieron una diferencia de color CIEDE2000 por encima del umbral de perceptibilidad (PT), esto quiere decir que el cambio de color postratamiento puede ser detectado por el ojo humano. Sin embargo de estos grupos solamente SRBE, SRBEt y PH tuvieron un valor de CIEDE2000 por encima del umbral de aceptabilidad, quiere decir que clínicamente el cambio de color no fue aceptable para el ojo humano, por ende el cambio que se logró fue notorio y relevante para un observador. Lo anterior determina que la SRBE sin modificar y a la que se modificó la tensión superficial, producen cambios de color que clínicamente serían evidenciables ante un observador, lo cual es muy favorable, ya que podrían más adelante con mayor investigación, ser empleadas como sustancias aclaradoras dentales; también el peróxido de hidrógeno como control comercial mostró ese comportamiento.

Para el índice de blanqueamiento WID se encontró que éste aumentó postratamiento para los grupos C y PH, aunque ese aumento no fue estadísticamente significativo. El aumento en el WID quiere decir que los dientes fueron más claros o “blancos” luego de la intervención. Los grupos SRBE, SRBEv, SRBEt y SRBEvt mostraron una disminución en el índice de blanqueamiento WID postratamiento, estadísticamente significativa para los grupos SRBEv y SRBEt (ver tabla 13). La disminución en el WID indicaría que los dientes no blanquearon. Sin embargo como se ha mencionado en varias ocasiones, visualmente los dientes tratados con las diferentes SRBE lucen más blancos luego de la aplicación, por ende la reducción en el WID que indicaría lo contrario, podría asociarse a la disminución de la variable  $L^*$  que produjeron las SRBE experimentales, ya que  $L^*$  es parte de la fórmula para calcular el WID. En párrafos anteriores se dieron hipótesis sobre las causas de la disminución del valor o luminosidad. Otra causa de la disminución del WID puede ser la falta de homogeneidad en el esmalte de los dientes tratados con las distintas SRBE, debido a que esto causa alteración en la lectura del color realizada con el VITA EasyShade.

Para responder al objetivo, evaluar la influencia de la viscosidad y la tensión superficial de la sustancia remineralizante, sobre la homogeneidad en el color del esmalte dental (tercer objetivo), se tomaron fotografías a las muestras pre y postratamiento y se realizó un análisis de imágenes con un programa. El programa arroja dos variables que permiten cuantificar la homogeneidad del color de los dientes, porcentaje de homogeneidad y porcentaje de bordes; el primero muestra en porcentaje, del total del área evaluada que parte logró ser modificada (blanqueada) por las diferentes sustancias, y el porcentaje de bordes mide la cantidad de manchas o áreas blanqueadas, por medio de cuantificar los bordes que forman las manchas. Por ende a mayor porcentaje de homogeneidad y menor porcentaje de bordes, mayor es la homogeneidad en el color del esmalte.

Para el porcentaje de homogeneidad se encontró, que no hay diferencias significativas entre antes y después de la aplicación de los tratamientos. Las muestras tratadas con peróxido de hidrógeno presentaron una reducción del 7% en el porcentaje de homogeneidad. Las muestras tratadas con la SRBEt, fueron las únicas que presentaron un aumento del valor de homogeneidad. El grupo C no presentó cambios en la homogeneidad en las mediciones antes y después.

Para el porcentaje de bordes se observa que en el grupo PH y el grupo C no hubo cambios importantes. Para los cuatro grupos tratados con las sustancias experimentales se observó un aumento en el porcentaje de bordes postratamiento, es decir que la cantidad de manchas en el esmalte aumentó. El grupo con mayor aumento en el porcentaje de bordes fue el grupo SRBEv.

Posiblemente este incremento en el porcentaje de bordes o cantidad de manchas, fue mayor en este grupo, ya que esta sustancia contiene el agente viscosante polivinil alcohol, que al mezclarse con el calcio de la SRBE, genera una reacción que produce aglutinaciones, por esta razón al quedar la sustancia con “grumos”, se incrementa la posibilidad que el esmalte tratado no quede homogéneo.

Todos los resultados apuntaron a que el grupo SRBEt (SRBE con tensión superficial modificada) presentó el mejor comportamiento en cuanto a homogeneidad del color de la superficie tratada, lo cual es coherente, dado que la aplicación de un tensoactivo produce una mejor interacción de la sustancia con la superficie del esmalte, que le permite impregnarla adecuadamente.

De los anteriores resultados de homogeneidad del esmalte, se responde también el objetivo, identificar si la homogeneidad en el color de la superficie blanqueada se relaciona con las propiedades del esmalte o de la sustancia remineralizante (primer objetivo). Se concluye frente a este objetivo que la homogeneidad en el color del esmalte depende de ambos factores. Se demostró que depende del tratamiento, debido a que a pesar que en el piloto y el ensayo definitivo se emplearon diferentes tipos de dientes, bovinos-humanos/planos-convexos respectivamente, los resultados para las variables porcentaje de homogeneidad y porcentaje de bordes para ambos ensayos fueron muy similares, es decir que el tipo de tratamiento está influyendo en los resultados. Así mismo, se observó en los ensayos piloto y definitivo, que para un grupo de dientes, tratados con la misma intervención, se encontraron diferencias en los porcentaje de homogeneidad y porcentaje de bordes, es decir que propiedades de cada diente influyeron en el resultado, o de lo contrario todos tendrían el mismo valor para estas dos variables.

Otro objetivo de esta investigación fue comparar resultados según parámetros CIE Lab de la sustancia remineralizante experimental modificada, con respecto a la sustancia remineralizante desarrollada en el anterior estudio (quinto objetivo). Al realizar dicha

comparación se encontró que el comportamiento de las variables  $a^*$  y  $b^*$  para los grupos de la SRBE, fue muy similar para ambos estudios, ya que en los dos se encontró aumento de estos parámetros. Por el contrario para la variable  $L^*$ , en el estudio previo se encontró un aumento estadísticamente significativo para los grupos tratados con la SRBE y en el presente estudio se encontró una disminución de la variable para los grupos de la SRBE. Esta disminución se fundamenta posiblemente, como se mencionó antes en la aposición de cristales de la SRBE en la superficie del esmalte tratado, que genera algo de opacidad, por la forma como incide la luz.

Respecto a porcentaje de homogeneidad y porcentaje de bordes, no es posible hacer comparación ya que el estudio previo no las contempló.

La modificación de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental probada en estudio anterior, con el fin de mejorar la homogeneidad de la superficie blanqueada, fue otro de los objetivos (segundo objetivo). Por esta razón, se modificaron propiedades a la sustancia remineralizante blanqueadora experimental tales como la tensión superficial y la viscosidad, por medio de la aplicación de lauril sulfato de sodio y polivinil alcohol respectivamente. En las mediciones de tensión superficial a las diferentes sustancias se evidenció que la aplicación del tensoactivo redujo la tensión superficial de la SRBE de manera importante, como se pretendía, con respecto a la sustancia probada en el estudio previo. Adicionalmente, con la adición de Polivinil Alcohol, agente viscosante, se redujo también la tensión superficial moderadamente, ya que este es un polímero humectante y se comportó como tensoactivo moderado.

La reducción de la tensión superficial fue la modificación a la SRBE, que más impactó en el mejoramiento de la homogeneidad en el color de los dientes tratados.

En el análisis reológico dinámico del comportamiento de las SRBE, se encontró tal como se esperaba, un aumento en la viscosidad de las dos sustancias a las que se adicionó el Polivinil Alcohol (SRBEv y SRBEvt), que se vio reflejado en que se requirió un esfuerzo cortante mayor para que fluyeran, comparadas con la SRBEt y el peróxido de hidrógeno. En algunos momentos la curva de fluidez de las dos sustancias con viscosante, muestra picos donde el equipo requiere un mayor esfuerzo para que la sustancia fluya, esto podría explicarse por la presencia de aglutinaciones o grumos. Lo cual ocurre porque el calcio de la sustancia remineralizante blanqueadora experimental es muy reactivo e interactúa químicamente con el viscosante.

La SRBEt mostró un comportamiento reológico muy similar al peróxido de hidrogeno, Pola office®, ambos mostraron una curva de fluidez continua y progresiva, sin ofrecer resistencia en ningún punto. Esto es un punto a favor para esta sustancia ya que el Pola Office® es el referente clínico y comercial utilizado en el estudio.

Debido a que en la investigación en odontología se ha demostrado ampliamente los efectos nocivos del uso de los peróxidos como agentes blanqueadores dentales, se han propuesto en la literatura materiales alternativos blanqueadores, como se mencionó en el marco teórico. Sin embargo, la literatura que reporta el uso de sustancias blanqueadoras de tipo remineralizante, es bastante reducida.

Autores como Niwa M. 2001 (62), Guo C. 2002 (14). Dabanoglu A. 2009 (63) y Jin J. 2013 (15), probaron la hidroxiapatita y fosfato tricálcico en diferentes presentaciones, como sustancias blanqueadoras y reportan haber logrado modificación del color en los diferentes sistemas de medición manejados. Varios de los estudios, así como la presente investigación son realizados in vitro, es decir que se encuentran en las primeras etapas de investigación y se requiere dar continuidad a los mismos para llegar a estar disponibles para el uso humano.

La técnica de medición de color en los artículos encontrados sobre sustancias blanqueadoras remineralizantes varia, utilizando algunas técnicas subjetivas visuales, cámaras digitales, colorímetros y espectrofotómetros; así mismo se manejan diferentes sistemas de medición del color, desde el CIELAB, hasta otros menos objetivos como el test de Kobayashi y Lobene. En el presente estudio aparte de trabajar con CIELAB, se evaluó las diferencias de color por medio de la fórmula CIEDE2000 que permite analizar el color tridimensionalmente y tiene en cuenta no solo las mediciones instrumentales, sino también visuales. Los estudios que trabajan con CIELAB como Dabanoglu, Jin y Guo, al igual que el presente estudio encontraron variación del delta E, es decir que hubo un cambio de color, aunque esa variable no indica la dirección del cambio.

En este trabajo de investigación se tuvieron como variables de evaluación del cambio de color Delta E y CIEDE 2000 (30) (28) y como evaluación del blanqueamiento realizado, el índice de blanqueamiento WID (65). Sin embargo estas dos últimas no se contemplaron en los estudios consultados.

Ninguno de los estudios encontrados de sustancias blanqueadoras remineralizantes evaluaron la homogeneidad en el color del esmalte tratado, por ende a este nivel no existe parámetro para comparación en la literatura.

La poca literatura disponible sobre sustancias blanqueadoras remineralizantes y la no consecución de artículos que evalúen la homogeneidad del color de los dientes tratados con blanqueamiento, son una limitación, ya que no se pueden comparar los resultados del presente estudio con muchos referentes científicos existentes. Sin embargo esto también es una gran fortaleza del estudio, ya que se está trabajando en un campo no muy explorado, en la investigación odontológica, ya que la SRBE planteada, es un material innovador y que ofrece no solamente cambio de color visualmente apreciable, sino que protege el componente proteico e inorgánico del esmalte, tal como lo describe un análisis químico realizado en otro estudio que evaluó la SRBE (18). Adicionalmente el desarrollo del programa analizador de imágenes de este estudio es un aporte, para el futuro análisis de muestras que requieran análisis de homogeneidad o evaluar la presencia de manchas, lo cual también es innovador.

Los resultados encontrados permiten contemplar a futuro la sustancia blanqueadora experimental como una alternativa remineralizante y no oxidativa, a los peróxidos de hidrógeno y carbamida usados para blanqueamiento dental. Sin embargo se requiere más investigación al respecto para continuar mejorando propiedades de la sustancia que optimicen su desempeño y así mismo asegurar que presenta todas las condiciones de efectividad y seguridad para el uso humano.

Es necesario realizar más investigación alrededor de la SRBE, como la evaluación de que factores podrían modificarse con el fin de mejorar la homogeneidad del color del esmalte tratado, ya que aunque se encontró que la aplicación del tensoactivo aumento la homogeneidad, los dientes aún no son del todo homogéneos. También se debe realizar un análisis con microscopia electrónica con el fin de identificar si la sustancia se aposicionó y qué relación tiene con el esmalte tratado.

Debido a que visualmente los dientes tratados con la SRBE se observan más blancos postratamiento, pero espectrofotométricamente se encontró disminución de valor, aumento del  $a^*$  y  $b^*$  y disminución de índice de blanqueamiento WID, sería muy útil realizar en el futuro un estudio de la evaluación visual de los dientes tratados, donde posiblemente si se evidenciarían cambios favorables de los dientes tratados con la SRBE. También es muy importante trabajar en cuanto a la disminución de los tiempos necesarios para que la sustancia actúe, ya que en la actualidad se requiere una



aplicación de seis horas para que se produzcan cambios en el color, lo cual no es conveniente clínicamente.

Con todos los anteriores resultados mencionados y analizados, se rechazan las hipótesis nulas planteadas para la investigación.

A pesar de las limitaciones del estudio, la SRBEt mostró generar un cambio de color que podría ser notorio clínicamente, según umbrales PT y AT (30) y además mostró el mejor comportamiento de homogeneidad en el color, entre las Sustancias experimentales, por ende es la sustancia de elección a seguir mejorando para que más adelante y realizando las mejoras pertinentes, se pueda plantear como una opción de uso clínico.

## 6. Conclusiones

- La viscosidad y la tensión superficial de la SRBE, influyeron en la homogeneidad en el color del esmalte dental tratado.
- La sustancia remineralizante blanqueadora experimental con tensión superficial modificada fue el único tratamiento que aumentó la homogeneidad de las muestras postratamiento.
- El grupo tratado con la SRBE con modificación de la viscosidad, fue el que más aumentó el porcentaje de bordes postratamiento.
- La homogeneidad en el color del esmalte dental tratado con la sustancias remineralizantes blanqueadoras experimentales, se relaciona con las propiedades del esmalte, así como también con las propiedades de la sustancia como tal.
- Para todos los grupos de la SRBE, se encontró disminución en el parámetro L\* del color (luminosidad).
- Tanto los grupos de la SRBR y el grupo PH mostraron cambios de color según Delta E y CIEDE2000. Pero de estos grupos solo el SRBR, SRBEt y PH superaron el umbral de aceptabilidad.
- Los grupos de la SRBE mostraron disminución del índice de blanqueamiento WID postratamiento.

## **7. Aplicaciones clínicas**

La investigación acerca de sustancias blanqueadoras alternativas a los peróxidos, promete ofrecer opciones de biomateriales para uso clínico, que sean efectivos en el cambio de color dental de los pacientes, pero sin poner en riesgo la integridad del esmalte, complejo pulpodental y tejidos periodontales.

## 8. Bibliografía

1. Tareas de procesos. Azeótropos. [Internet]. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <https://sites.google.com/site/tareasdeprocesos/home/azeotropos>
2. Stress (mechanics). En: Wikipedia [Internet]. 2017 [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Stress\\_\(mechanics\)&oldid=763033515](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Stress_(mechanics)&oldid=763033515)
3. Salager J, Fernández A. Surfactantes. Cuad FIRP. 2004;300:07–13.
4. Alcohol Polivinílico (PVOH/PVA) [Internet]. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://polivinilicoslaily.blogspot.com/2011/11/alcohol-polivinilico-pvohpva.html>
5. La reología y reometría | QuimiNet.com [Internet]. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <https://www.quiminet.com/articulos/la-reologia-y-reometria-31659.htm>
6. Reometría. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2016 [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Reometr%C3%ADa&oldid=92124739>
7. Tensión Superficial [Internet]. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://fsz.ifas.ufl.edu/surfacetensionandcapillarity/html/tension.htm>
8. ¿Qué es Viscosidad? - Su Definición, Concepto y Significado [Internet]. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://conceptodefinicion.de/viscosidad/>
9. Goldberg M, Grootveld M, Lynch E. Undesirable and adverse effects of tooth-whitening products: a review. Clin Oral Investig. febrero de 2010;14(1):1-10.
10. Rodríguez CT. Efectos microquímicos del peróxido de hidrógeno de alta concentración y el ácido fosfórico sobre la capa superficial y subsuperficial del esmalte bovino. Editorial de la Universidad de Granada; 2010.
11. Joiner A. Review of the effects of peroxide on enamel and dentine properties. J Dent. diciembre de 2007;35(12):889-96.
12. de Oliveira R, Paes Leme AF, Giannini M. Effect of a carbamide peroxide bleaching gel containing calcium or fluoride on human enamel surface microhardness. Braz Dent J. 2005;16(2):103-6.
13. Alexandrino L, Gomes Y, Alves E, Costi H, Rogez H, Silva C. Effects of a bleaching agent with calcium on bovine enamel. Eur J Dent. julio de 2014;8(3):320-5.
14. Guo C, Liu H, Katayama I. Effect of hydroxyapatite toothpaste on vital tooth color. J Dent Res. 2002;81:1964.
15. Jin J, Xu X, Lai G, Kunzelmann K-H. Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. Eur J Oral Sci. 1 de agosto de 2013;121(4):382-8.

16. Gerlach RW, Ramsey LL, Baker RA, White DJ. Extrinsic stain prevention with a combination dentifrice containing calcium phosphate surface active builders compared to two marketed controls. *J Clin Dent*. 2002;13(1):15-8.
17. Vargas P. Efecto de una sustancia remineralizante sobre el color del esmalte dental. Universidad Nacional de Colombia. 2012;
18. González J. Análisis químico del esmalte dental humano tratado con una sustancia remineralizante experimental. [Bogotá]: Universidad Nacional de Colombia; 2015.
19. Cui F-Z, Ge J. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med*. junio de 2007;1(3):185-91.
20. Nanci A. Ten Cate's Oral Histology-Pageburst on VitalSource: Development, Structure, and Function [Internet]. Elsevier Health Sciences; 2007 [citado 4 de noviembre de 2014]. Disponible en: [http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=koYvqf5iExYC&oi=fnd&pg=PA1&dq=oral+histology+development+structure+and+function+seven+&ots=rV-JSBUrR\\_&sig=2ECjsEn9MyhiwClyxUtKwJfbl5Y](http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=koYvqf5iExYC&oi=fnd&pg=PA1&dq=oral+histology+development+structure+and+function+seven+&ots=rV-JSBUrR_&sig=2ECjsEn9MyhiwClyxUtKwJfbl5Y)
21. Bhaskar S. Histología e embriología oral de Orban. En: Histología e embriología oral de Orban. Artes Médicas; 1989.
22. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent*. 2004;32 Suppl 1:3-12.
23. Steenbecker O, Garone W, Da Souza C, Uribe J, Núñez N, Priotto E. Principios y bases de los biomateriales en operatoria dental estética adhesiva. Valparaíso Univ Valparaíso Editor. 2006;
24. Sikri VK. Color: Implications in dentistry. *J Conserv Dent JCD*. octubre de 2010;13(4):249-55.
25. [www.redgeomatematica.rediris.es](http://www.redgeomatematica.rediris.es). El Sistema Munsell de Especificación del Color.
26. Westland S. Review of the CIE system of colorimetry and its use in dentistry. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent Al*. 2003;15 Suppl 1:S5-12.
27. Pecho OE, Pérez MM, Ghinea R, Della Bona A. Lightness, chroma and hue differences on visual shade matching. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater*. noviembre de 2016;32(11):1362-73.
28. Pecho OE, Ghinea R, Alessandretti R, Pérez MM, Della Bona A. Visual and instrumental shade matching using CIELAB and CIEDE2000 color difference formulas. *Dent Mater*. enero de 2016;32(1):82-92.
29. Luo MR, Cui G, Rigg B. The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. *Color Res Appl*. 1 de octubre de 2001;26(5):340-50.
30. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Igiel C, Linninger M, et al. Color Difference Thresholds in Dentistry. *J Esthet Restor Dent*. 1 de marzo de 2015;27:S1-9.

31. Chu SJ, Trushkowsky RD, Paravina RD. Dental color matching instruments and systems. Review of clinical and research aspects. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:e2-16.
32. Pecho OE, Ghinea R, Perez MM, Della Bona A. Influence of Gender on Visual Shade Matching in Dentistry. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent Al.* abril de 2017;29(2):E15-23.
33. Sensing KM. ¿Cuál es la diferencia entre radiómetros, espectrofotómetros y espectroradiómetros? [Internet]. Konica Minolta Color, Light, and Display Measuring Instruments. [citado 24 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://sensing.konicaminolta.us/2015/05/cual-es-la-diferencia-entre-radiometros-espectrofotometros-y-espectroradiometros/>
34. Chu SJ. Use of a reflectance spectrophotometer in evaluating shade change resulting from tooth-whitening products. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent Al.* 2003;15 Suppl 1:S42-48.
35. Bersezio C, Oliveira Jr OB, Docencia L, Angel P, Estay J, Corral C. Instrumentación para el registro del color en odontología. *Rev Dent Chile.* 2014;105(1):8–12.
36. Vita Zahnfabrik. Vita Easyshade Compact. Manual del usuario. Versión 02-09.
37. Zahnfabrik V. VITA Easyshade® V [Internet]. VITA Zahnfabrik. [citado 14 de noviembre de 2017]. Disponible en: <https://www.vita-zahnfabrik.com/es/VITA-Easyshade-26937.html>
38. Vita Zahnfabrik. Vita Easyshade. Instrucciones de Uso. Vol. Versión 02-06.
39. Mesa H. Clasificación de poros en carbonos tratados térmicamente empleando microscopía asistida por computador. *Bol Cienc Tierra.* 10 de octubre de 2009;0(25):81-92.
40. Nistal AM, Nuño AS. Proceso digital de imágenes microscópicas. 1994;117-33.
41. Cortés MÁB. Los computadores para graficación y los analizadores de imagen. *Ing E Investig.* 9 de febrero de 2011;0(2):75-9.
42. Motic Images Plus 2.0 Routine Software Series [Internet]. [citado 14 de noviembre de 2017]. Disponible en: [http://www.motic.com/As\\_microscope\\_software\\_r/product\\_230.html](http://www.motic.com/As_microscope_software_r/product_230.html)
43. Sulieman MAM. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontol 2000.* 2008;48:148-69.
44. Pulido K. Sustancias blanqueadoras alternativas: Una revisión bibliográfica. *Univ Nac Colomb.* 2013;
45. Lewis R, Barber SC, Dwyer-Joyce RS. Particle motion and stain removal during simulated abrasive tooth cleaning. *16th Int Conf Wear Mater.* 10 de septiembre de 2007;263(1–6):188-97.

46. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent.* agosto de 2006;34(7):412-9.
47. Cavalli V. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater.* 2004;20:733-9.
48. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. *Crit Rev Oral Biol Med Off Publ Am Assoc Oral Biol.* 2003;14(4):292-304.
49. Morozov IA, Belyaev AY, Izyumov RI, Erofeeva ES, Gileva OS. Impact of whitening on the microstructure of human tooth enamel. *Inorg Mater Appl Res.* 2013;4(1):71-76.
50. Ogiwara M, Miake Y, Yanagisawa T. Changes in dental enamel crystals by bleaching. *J Hard Tissue Biol.* 2008;17(1):11-16.
51. Janurudin, J. Preparation of a hydroxyapatite and hydrogen peroxide composite for tooth whitening. *Biomed Mater Eng.* 2007;17:69-75.
52. Juárez Broon N, Andaracua García S, Barrera Zamacona DK. Blanqueamiento dental intrínseco utilizando técnica termo-catalítica. Presentación de un caso clínico. *Rev Odontológica Mex.* julio de 2014;18(3):186-90.
53. Zimmerli B, Jeger F, Lussi A. Bleaching of nonvital teeth. A clinically relevant literature review. *Schweiz Monatsschrift Für Zahnmed Rev Mens Suisse Odonto-Stomatol Riv Mens Svizzera Odontol E Stomatol SSO.* 2010;120(4):306-20.
54. Joiner A, Philpotts CJ, Alonso C, Ashcroft AT, Sygrove NJ. A novel optical approach to achieving tooth whitening. *J Dent.* 2008;36, Supplement 1:8-14.
55. Joiner A. Whitening toothpastes: a review of the literature. *J Dent.* 2010;38 Suppl 2:e17-24.
56. Quimplex S.A. de C.V.» Fosfatos (Técnicos y Alimenticios) » HEXAMETAFOSFATO DE SODIO [Internet]. [citado 8 de mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.quimplex.com/?p=239>
57. Pentapati KC, Sabnis N, Shrikhande B, Kashyap R, Kukkamalla MA. Stain Removal Efficacy of Herbal Mouth Rinses Containing Sodium Hexametaphosphate. *J Res Med Educ Ethics.* 2014;4(2):165-170.
58. Zhao J, Liu Y, Sun W-B, Zhang H. Amorphous calcium phosphate and its application in dentistry. *Chem Cent J.* 2011;5:40.
59. Amorphous Calcium Phosphate: The Contention of Bone.: EBSCOhost [Internet]. [citado 9 de mayo de 2015]. Disponible en: [https://bases.javeriana.edu.co/f5-w-687474703a2f2f6564732e622e656273636f686f73742e636f6d\\$\\$/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=54cc323b-5f71-488a-840c-6f18a7f23326%40sessionmgr111&hid=120#](https://bases.javeriana.edu.co/f5-w-687474703a2f2f6564732e622e656273636f686f73742e636f6d$$/ehost/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=54cc323b-5f71-488a-840c-6f18a7f23326%40sessionmgr111&hid=120#)
60. DE Abreu DR, Sasaki RT, Amaral FLB, Flório FM, Basting RT. Effect of home-use and in-office bleaching agents containing hydrogen peroxide associated with amorphous calcium

- phosphate on enamel microhardness and surface roughness. *J Esthet Restor Dent Off Publ Am Acad Esthet Dent Al.* junio de 2011;23(3):158-68.
61. Marta Londoño. Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas.
  62. Niwa M, Sato T, Li W, Aoki H, Aoki H, Daisaku T. Polishing and whitening properties of toothpaste containing hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med.* marzo de 2001;12(3):277-81.
  63. Dabanoglu A, Wood C, García-Godoy F, Kunzelmann K-H. Whitening effect and morphological evaluation of hydroxyapatite materials. *Am J Dent.* febrero de 2009;22(1):23-9.
  64. Vargas P. Effect of a new remineralizing biomaterial on the color of dental enamel. *Acta Odontol Latinoam.* 2014;27(1):3-8.
  65. Pérez M del M, Ghinea R, Rivas MJ, Yebra A, Ionescu AM, Paravina RD, et al. Development of a customized whiteness index for dentistry based on CIELAB color space. *Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater.* marzo de 2016;32(3):461-7.
  66. Gonzáles Pita LC, Úsuga Vacca MV, Torres Rodríguez C, Delgado Mejía E, others. Human teeth biobank for research in odontology. *Acta Odontológica Colomb Vol 4 Núm 1* 2014 9-21 2027-7822 [Internet]. 2014 [citado 16 de noviembre de 2014]; Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/42631/>
  67. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Segunda edición. Hillsdale, NJ: Erlbaum.; 1988.
  68. Sullivan GM, Feinn R. Using Effect Size-or Why the P Value Is Not Enough. *J Grad Med Educ.* septiembre de 2012;4(3):279-82.
  69. Posada MC, Sánchez CF, Gallego GJ, Vargas AP, Restrepo LF, López JD. « Dientes de bovino como sustituto de dientes humanos para su uso en la odontología». Revisión de literatura. *CES Odontol.* 2006;19(1):63–68.
  70. Sharma G, Wu W, Dalal EN. The CIEDE2000 color-difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Res Appl.* 1 de febrero de 2005;30(1):21-30.
  71. Luo W, Westland S, Brunton P, Ellwood R, Pretty IA, Mohan N. Comparison of the ability of different colour indices to assess changes in tooth whiteness. *J Dent.* febrero de 2007;35(2):109-16.



